

BROTADO PRE-COSECHA Y PRE-GERMINADO EN CEBADA CERVECERA:
PREDICCIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD DEL CULTIVO BASADA EN EL AMBIENTE Y
MANEJO POS-COSECHA DE LOS GRANOS DAÑADOS

*Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires,
Área Ciencias Agropecuarias*

Nicolás Aníbal Gualano
Ingeniero Agrónomo - Universidad de Buenos Aires - 2004

Lugar de trabajo: Cátedra de Cerealicultura, Facultad de Agronomía,
Universidad de Buenos Aires



Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires



COMITÉ CONSEJERO

Director de Tesis

Roberto Luis Benech-Arnold

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)

Doctor of Philosophy (University of Southampton)

Director de Estudios

Rodolfo Augusto Sánchez

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)

Doctor of Philosophy (University of California)

JURADO DE TESIS

Director de Tesis

Roberto Luis Benech-Arnold

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)

Doctor of Philosophy (University of Southampton)

JURADO

Ángel Jesús Matilla

Licenciado en Biología (Universidad de Santiago de Compostela)

Doctor en Biología (Universidad de Salamanca)

JURADO

Daniel Fernando Calderini

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)

Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

JURADO

Sara Beatriz Maldonado

Bióloga (Universidad Nacional de Córdoba)

Doctora en Biología (Universidad Nacional de Córdoba)

Fecha de defensa de la tesis: 12 de diciembre de 2011

A mi familia y amigos

AGRADECIMIENTOS

En estas páginas intento agradecer y recordar a todas las personas que de manera directa o indirecta estuvieron presentes en esta tesis. A toda mi familia por su constante apoyo. A mi papá Aníbal por sus ayudas logísticas y técnicas y sus varios días de trabajo en los ensayos. A mi mamá Beatriz por su excelente apoyo gastronómico. A mi hermano Fernando por su ayuda informática. A mí tío Cholo por su buena onda e infinita ayuda. A mi abuela Violeta por su compañía. A mi tío Arturo por su literatura y conocimiento enciclopédico.

A mi director Roberto Benech, por su excelente guía académica y por la libertad en el trabajo. A mi director de estudios Rodolfo Sánchez. Al grupo de semillas, a Vero Rodríguez por enseñarme los primeros pasos en la investigación. A Guille Mendiando por su motivación científica. A Diego Batlla por sus visiones.

A toda la gente de la Cátedra de Cereales y de Producción Vegetal. A mi amigo Walter Tanaka. A mis compañeros de oficina, los “viejos” y los “nuevos”, a Brenda, Ramiro, Gaspar, Nacho, Santiago, el Negro, el Flaco, Román, Gaby, Beto, Guille, Magui, Luis, Juani y Renata. A Luis Hercun por su charlas divertidas, sus mates, su simpleza y sus historias misioneras. A Paulina, por lo mismo.

A la gente del IFEVA, por la buena onda y por facilitarme aparatos. A Débora Rondanini y Milena Manzur. A los habitantes del viejo laboratorio grande de “Casal”, Sabrina, Laura, Constanza. A Walter, Juan Carlos y Tornese. A Marisol.

A todos aquellos que participaron en los recuentos de germinación! Gaby Auge, Vero, Débora, Clau, Alba, Marcela.

A Antonio Guglielmini y Adriana Kantolic por los buenos momentos compartidos en la cursada de Granos.

A la gente de Cultivos Industriales. Raúl, Fernando, Belén, Diego, Nora Gómez. A Ale Gil por las interesantes charlas y su sentido del humor.

A Clau por todas las emociones vividas y los lindos y divertidos momentos compartidos.

A Silvina Enciso por la buena onda, la ayuda y su sentido del humor. A Patricia del Fuego por su ayuda con los ensayos y la buena predisposición.

A los que estuvieron en los primeros tiempos, a Nacho Rodríguez, a María. A Pity y Juan Fuentes. A los muchachos de campo, por la buena onda.

A mi amigo Ignacio Mayorga, vecino de ensayo en Horticultura. A Sofía Güell y Marcela Piperata por los mates compartidos a pie de cultivo.

Al cerrajero Marcos, por hacer 308 g de llaves de funcionamiento impecable.

A los alumnos que colaboraron con el proyecto. A José Sánchez por su dedicación y compromiso con el trabajo y la buena onda. A Sebastián Lerena por lo mismo.

A Gustavo Slafer y Roxana Savin por haberme recibido en España y por su calidad humana. A Ignacio Romagosa por facilitarme el material para los ensayos y la buena predisposición. A los chicos del laboratorio de Ecofisiología de Cultivos en Lleida (Ariel, Martín, Mariano) por hacerme sentir que estaba en casa.

A toda la gente de la EPG (Ale, Romina, Alicia).

A Oscar Fredes por su música y la buena onda.

A la gente del criadero Quilmes Tres Arroyos. A Antonio Aguinaga por facilitarme material y por su apoyo y buena onda. A la gente de Maltería Pampa, a Marcelo Sendra porque siempre que le pedí semilla la tuve. A Liliana Wehrhahne (INTA Barrow) y a Fernando Giménez (INTA Bordenave). Al Ing. Alejandro Vallati y su mujer por su generosa hospitalidad.

A Carlos Carloni por conseguirme papers imposibles.

A Albita por acompañarme y apoyarme en estos últimos tiempos y por su ternura incondicional. Y porque es una “monada”.

A mis amigos de teatro (Dani, Romy, Anita, Guille, Estelita, Flor, Alicia, Richard, Marina, Sol) y fotografía (Sil, Andre, Juan Pablo) por mostrarme y compartir ese apasionante nuevo mundo del arte.

A mis amigos que encontré en el viejo mundo (Dani, Noe, Omar, Nuria, María José, Habibi, Myriam, Annabel, Francesc, Jordi y Bego).

A la UBA y al CONICET por permitirme estudiar, pensar y desarrollarme con libertad, y por facilitarme los recursos para mi formación doctoral.

Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución.

Nicolás A. Gualano

Publicaciones derivadas de la tesis

Artículos con referato internacional

- **Gualano NA**, Benech-Arnold RL. 2009. Predicting pre-harvest sprouting susceptibility in barley: Looking for “sensitivity windows” to temperature throughout grain filling in various commercial cultivars. *Field Crops Research* 114:35-44.
- **Gualano NA**, Benech-Arnold RL. 2009. The effect of water and nitrogen availability during grain filling on the timing of dormancy release in malting barley crops. *Euphytica* 168:291-301.
- **Gualano NA**, Del Fueyo PA, Benech-Arnold RL. Using the Viability Equation to predict storability of malting barley (*Hordeum vulgare* L.) grain lots with different pre-germination damage at malting industry. En preparación.

Capítulos de libros

- **Gualano NA**, Del Fueyo PA, Mendiando GM, Benech-Arnold RL y Rodríguez MV. Implicancias de la dormición en la producción y utilización de cultivos de granos. 2011. En: Miralles DJ, Benech-Arnold RL, Abeledo LG (eds.) *Cebada cervecera: bases funcionales para un mejor manejo del cultivo*. Editorial Facultad de Agronomía.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS	xvii
ÍNDICE DE FIGURAS	xxi
ABREVIATURAS	xxv
RESUMEN	xxvii
ABSTRACT	xxviii
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN GENERAL	29
1.1. Implicancias de la dormición en la producción y utilización de cultivos de granos	31
1.2. Consecuencias del BPC y pre-germinado	33
1.3. Pérdidas económicas causadas por BPC	34
1.4. Medición de BPC y pre-germinado	36
1.5. Mejoramiento genético contra BPC	38
1.6. La falta de dormición y sus consecuencias sobre la viabilidad de las semillas	39
1.7. Dormición en cereales: control genético y ambiental	42
1.8. Brotado pre-cosecha y pre-germinado en cebada cervecera	46
OBJETIVOS	53
HIPÓTESIS	55
CAPÍTULO 2: PREDICCIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD A BROTADO PRE-COSECHA A PARTIR DE LA TEMPERATURA DURANTE EL LLENADO DE GRANOS EN CULTIVOS DE CEBADA CERVECERA	57
2.1. Introducción	59
2.2. Materiales y Métodos	61
2.2.1. Materiales y Métodos. Generalidades comunes a todos los Capítulos	61
2.2.1.1. Material vegetal	61
2.2.1.2. Localidades y sitios	62
2.2.1.3. Arreglo espacial y manejo del cultivo	62
2.2.1.4. Dinámica de salida de la dormición	62
2.2.1.5. Dinámica de acumulación de materia seca y humedad en grano	63
2.2.2. Materiales y Métodos propios del Capítulo 2	63
2.2.2.1. Material vegetal	63
2.2.2.2. Diseño experimental y tratamientos	64
2.2.2.3. Duración del período de llenado de granos	65

2.2.2.4. Generación de los modelos predictivos de la susceptibilidad a BPC	66
2.2.2.5. Validación de los modelos predictivos de la susceptibilidad a BPC	68
2.2.2.5. Análisis estadístico	69
2.3. Resultados	69
2.3.1. Duración del llenado de granos y momento de madurez fisiológica	69
2.3.2. Dinámica de salida de la dormición	71
2.3.3. Salida de la dormición y temperatura durante el llenado de granos	74
2.3.4. Comparación entre modelos cultivar - específicos vs. un modelo general	77
2.3.5. Salida de la dormición y fotoperíodo durante el llenado de granos	79
2.3.6. Validación de los modelos predictivos de la susceptibilidad a BPC	80
2.3.6.1. Condiciones ambientales en los sitios de validación	82
2.4. Discusión	84

CAPÍTULO 3: EFECTO DE LA DISPONIBILIDAD DE NITRÓGENO Y DE AGUA DURANTE EL LLENADO DE GRANOS SOBRE LA DINÁMICA DE SALIDA DE LA DORMICIÓN EN CULTIVOS DE CEBADA CERVECERA	89
3.1. Introducción	91
3.2. Materiales y Métodos	92
3.2.1. Material vegetal	92
3.2.2. Diseño experimental y tratamientos	92
3.2.3. Duración del período de llenado de granos	93
3.2.4. Dinámica de salida de la dormición	93
3.3. Resultados	93
3.3.1. Patrón de salida de la dormición en las parcelas control	93
3.3.2. Efecto de la disponibilidad de N del suelo sobre la salida de la dormición	94
3.3.3. Efecto de la disponibilidad de agua durante el llenado de granos sobre la salida de la dormición	97
3.3.4. Estrés hídrico y ambiente térmico durante el llenado de granos	100
3.4. Discusión	103

CAPÍTULO 4: PREDICCIÓN DE LA VIABILIDAD DE LOTES DE CEBADA CERVECERA CON DAÑO POR PRE-GERMINADO DURANTE EL ALMACENAMIENTO INDUSTRIAL	107
4.1. Introducción	109
4.2. Materiales y Métodos	110
4.2.1. Material vegetal y tratamientos	110
4.2.2. Envejecimiento acelerado y determinaciones	110
4.2.3. Modelización de la relación K_i -FN	112
4.2.4. Análisis estadístico	113
4.3. Resultados	113
4.3.1. Efecto del pre-germinado sobre la viabilidad inicial, longevidad potencial y almacenabilidad de los lotes	113
4.3.2. Relaciones entre el Falling Number y la longevidad potencial (K_i) de los lotes	115
4.3.3. Validación del modelo general K_i -FN	116
4.3.4. Aplicación de los resultados obtenidos a la predicción de la viabilidad de lotes de cebada cervecera con daños por pre-germinado durante el almacenamiento comercial	118
4.3.5. Consecuencias teóricas del pre-germinado sobre la almacenabilidad de lotes de cebada cervecera	119
4.4. Discusión	120
 CAPÍTULO 5: DISCUSIÓN GENERAL	 123
5.1. Discusión General	125
5.2. Conclusiones	128
5.3. Consideraciones finales	129
 BIBLIOGRAFÍA CITADA	 131

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 2.1. Características de los principales cultivares de cebada cervecera utilizados en esta tesis	61
Cuadro 2.2. Duración del período de llenado de granos (se indica el error estándar SE) y temperatura base para dicho período para cada cultivar de cebada	69
Cuadro 2.3. Evolución diaria del porcentaje de germinación acumulado de granos (cv. Quilmes Ayelén) con cinco diferentes valores de IG, incubados a 20°C	73
Cuadro 2.4. Regresión lineal $IG_{20-10\%CHG}-T_{mTT}$: intervalo de TT significativo ($p < 0,001$), pendiente (b) y ordenada al origen (a), y valor del coeficiente de determinación ajustado (r^2) de esta relación; y r^2 de la regresión lineal entre el $IG_{20-10\%CHG}$ y la temperatura media durante todo el período de llenado de granos; para cada cultivar de cebada	74
Cuadro 2.5. Comparación de parámetros (pendiente b y ordenada al origen a) entre el modelo de cada cultivar de cebada y un Modelo General construido con datos de todas las variedades (excepto B1215). Datos de temperatura provenientes de la ventana de sensibilidad de mejor ajuste para cada cultivar (Modelo General 1)	78
Cuadro 2.6. Comparación de parámetros (pendiente b y ordenada al origen a) entre el modelo de cada cultivar de cebada y un Modelo General construido con datos de todas las variedades (excepto B1215). Datos de temperatura provenientes de una única ventana de sensibilidad ubicada entre los 300-350°Cd desde antesis (Modelo General 2)	78
Cuadro 2.7. Parámetros (pendiente b y ordenada al origen a) y coeficiente de determinación ajustado (r^2) de la regresión lineal que describe la asociación entre el $IG_{5-15\ DDMF}$ y la temperatura media durante la ventana de sensibilidad en los sitios de validación, para cada cultivar de cebada. Comparación de parámetros entre la regresión lineal de los datos de campo y el modelo experimental generado previamente	82
Cuadro 2.8. Evapotranspiración mensual potencial (ETPc) y real (ETRc) del cultivo de cebada, y la relación entre ambas (ETRc/ETPc), en los últimos tres meses del año para el sitio experimental (años 2004, 2005 y 2006) y los de validación (año 2007). La ETPc fue estimada por la metodología de Turc (1961), y la ETRc a partir de las precipitaciones de cada año particular y el almacenaje de agua en el suelo (ver Materiales y Métodos de este Capítulo)	83

Cuadro 3.1. Evapotranspiración mensual potencial (ETPc) y real (ETRc) del cultivo de cebada, y la relación entre ambas (ETRc/ETPc), en las parcelas irrigadas y bajo sequía para los últimos tres meses de ambos años experimentales. La ETPc fue estimada por la metodología de Turc (1961), y la ETRc a partir de las precipitaciones de cada año particular y el almacenaje de agua en el suelo (ver Capítulo 2)	101
Cuadro 3.2. Ventana con sensibilidad a la temperatura (ver Capítulo 2) definida en tiempo térmico desde antesis; temperatura media del aire durante esta ventana (promedio de los tratamientos irrigados con ambas disponibilidades de N); e IG de granos entre MF y MC predichos a partir de los modelos desarrollados previamente (Capítulo 2), para los años experimentales 2004 y 2005. Se muestran las diferencias entre años en la temperatura media durante la ventana de sensibilidad y durante todo el período de llenado de granos, para cada cultivar de cebada	102
Cuadro 4.1. Porcentajes de viabilidad de diferentes muestras determinados por ensayos de germinación y test de tetrazolio (TZ). Ambas determinaciones arrojaron valores no significativamente diferentes ($p>0,24$). Análisis de TZ llevados a cabo por gentileza de M.Sc. Patricia Del Fueyo	111
Cuadro 4.2. Valores de Falling Number, Viabilidad inicial (V_i), Longevidad potencial (K_i) y Almacenabilidad (Alm. $V_{95\%}$) [tiempo hasta que se alcanza el 95% de viabilidad bajo condiciones comerciales de almacenaje (i.e., 12% humedad en grano y 25°C de temperatura)] de lotes de cebada cervecera sometidos a diferentes tratamientos de pre-germinado (a mayor tiempo de reposo potencialmente mayor daño por pre-germinado), para los tres cultivares analizados en 2009	114
Cuadro 4.3. Parámetros (pendiente y ordenada al origen) y coeficiente de determinación ajustado (r^2) de la regresión lineal que describe la asociación entre la K_i y el FN, para cada cultivar de cebada. Comparación de parámetros entre la regresión lineal para cada cultivar y un Modelo General construido con datos de las tres variedades	116
Cuadro 4.4. Comparación de parámetros (pendiente y ordenada al origen) entre el Modelo General construido con datos de tres variedades de cebada (año 2009) y la regresión lineal K_i -FN de datos de campo independientes (año 2006)	117

Cuadro 4.5. Evolución teórica de la viabilidad (%) durante el almacenamiento bajo condiciones comerciales (12% humedad en grano, base húmeda; 25°C temperatura) de lotes de cebada con diferente nivel de daño por pre-germinado (reflejado en el valor de FN).	119
Cuadro 4.6. Almacenabilidad teórica (días de almacenaje bajo condiciones comerciales hasta alcanzar una viabilidad del 95 ó 98%) de lotes con diferente nivel de daño por pre-germinado	119
Cuadro 4.7. FN mínimo necesario para obtener una viabilidad de 95 ó 98% en diferentes momentos del almacenaje bajo condiciones comerciales	120

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Brotado pre-cosecha en diferentes especies de cereales	33
Figura 1.2. Zonas agrícolas con frecuentes episodios de BPC en cultivos de cereales	35
Figura 1.3. Esquema mostrando diferentes tipos de dinámicas de salida de la dormición y de adquisición de la capacidad germinativa en cultivos de granos	39
Figura 1.4. Evolución del % de germinación (escala Probit) durante el período de almacenaje para: a) tres lotes de cebada cervecera con diferente nivel de pre-germinado: bajo (1), medio (2) y alto (3). Nótese el cambio en el parámetro K_i (ordenada al origen de la relación); b) un lote de cebada cervecera bajo diferentes condiciones de almacenamiento: estándar (1), o con mayor (2) o menor (3) temperatura y/o humedad de los granos. Adaptado de Del Fueyo <i>et al.</i> (1999)	41
Figura 1.5. Relación entre la temperatura media del aire experimentada por el cultivo de cebada (cv. Quilmes Palomar) durante la ventana de sensibilidad térmica comprendida en el intervalo de 300-350 °Cd desde floración ($T_{m_{300-350}}$), y el índice de germinación de granos cosechados 12 días después de madurez fisiológica (IG_{12DDMF}) e incubados a 20°C. Adaptado de Rodríguez <i>et al.</i> (2001)	48
Figura 1.6. Validación del modelo de predicción de la susceptibilidad a BPC. Relación entre la temperatura media explorada por el cultivo en el intervalo 300-350°Cd desde floración ($T_{m_{300-350}}$) y el índice de germinación observado en granos cosechados 12 días después de madurez fisiológica (IG_{12DDMF}) en dos localidades de la provincia de Buenos Aires (datos de campo). La línea gruesa indica el modelo experimental. Adaptado de Rodríguez <i>et al.</i> (2001)	50
Figura 1.7. Relación entre la longevidad potencial (K_i) de lotes de cebada cervecera cv. Quilmes Palomar y sus valores de Falling Number. Adaptado de Del Fueyo <i>et al.</i> (1999)	52
Figura 2.1. Esquema de las estructuras para el acortamiento del fotoperíodo	65
Figura 2.2. Evolución del peso seco relativo de granos (PSr) en función del tiempo térmico acumulado desde antesis (TTDA), para cada una de las fechas de siembra y cultivares analizados	70

Figura 2.3. Índice de germinación de granos cosechados en diferentes momentos (a) antes (escala en tiempo térmico) y (b) después de MF (escala en días calendario) para todos los cultivares de cebada sembrados en diferentes fechas durante los años 2004, 2005 y 2006. (c) El mismo patrón de evolución del IG graficado en una escala de contenido hídrico relativo en grano	72
Figura 2.4. Coeficientes de correlación (r) obtenidos entre los valores de $IG_{20-10\%CHG}$ y la temperatura media del aire dentro de diferentes intervalos de $50^{\circ}Cd$ de duración a lo largo del período de llenado de granos, para los cinco cultivares de cebada	75
Figura 2.5. Regresión lineal entre el IG de granos cosechados con 20-10% de contenido hídrico (base húmeda) e incubados a $20^{\circ}C$, y la temperatura media del aire dentro del intervalo de tiempo térmico de mejor ajuste, para cada cultivar de cebada	76
Figura 2.6. Ubicación relativa de la ventana de sensibilidad a la temperatura dentro del período de llenado de granos, para cada cultivar de cebada	77
Figura 2.7. Índice de germinación (IG) de granos cosechados a diferentes días post-antesis (DPA) en parcelas bajo tratamiento de extensión [2 h ($F_n + 2$) y 4 h ($F_n + 4$)] o acortamiento [4 h ($F_n - 4$)] del fotoperíodo durante el llenado de granos con respecto al fotoperíodo natural (F_n), para los cv. Quilmes Ayelén y Scarlett en dos años experimentales diferentes (2008 y 2009)	80
Figura 2.8. Relación lineal entre el IG 5-15 días después de MF ($IG_{5-15DDMF}$) y la temperatura media durante la ventana de sensibilidad (definida previamente) en los sitios de validación, para tres cultivares de cebada. La línea gruesa indica el modelo experimental	81
Figura 2.9. Lluvias (mm) durante el período de llenado de granos caídas en Buenos Aires en los años 2004, 2005 y 2006 (datos para el desarrollo de los modelos); y en los sitios de validación (año 2007)	83
Figura 3.1. Evolución media del índice de germinación (IG) de granos provenientes de parcelas bajo diferentes tratamientos durante el llenado de granos, en los años experimentales 2004 (a) y 2005 (b). Los tratamientos fueron: parcelas control, y baja (-) o alta (+) disponibilidad de agua y N en el suelo (y sus combinaciones). En 2005 el tratamiento H_2O-N- fue reemplazado por otro ($H_2O_{Tw} N+$) en el cual también se impuso sequía desde antesis, pero luego fue regado durante la ventana con sensibilidad a la temperatura (ver Capítulo 2)	94
Figura 3.2. Evolución del índice de germinación (IG) de granos de cada cultivar de cebada en el año 2004. Los tratamientos fueron ídem Fig. 3.1	95

Figura 3.3. Evolución del índice de germinación (IG) de granos de cada cultivar de cebada en el año 2005. Los tratamientos fueron ídem Fig. 3.1	96
Figura 3.4. Evolución media (excepto B1215) del índice de germinación (IG) de granos cosechados de parcelas con alta (+) o baja (-) disponibilidad de agua y alta (+) disponibilidad de N durante el llenado de granos, en los años 2004 y 2005	98
Figura 3.5. Relación entre el índice de germinación (IG) medio en parcelas bajo sequía e irrigadas (tratamiento de alta disponibilidad de N) para diferentes momentos después de anthesis, en 2004 y 2005	99
Figura 3.6. Relación entre el índice de germinación en parcelas bajo sequía e irrigadas (tratamiento de alta disponibilidad de N) de granos de cada cultivar de cebada para diferentes momentos después de anthesis, en 2004 y 2005	99
Figura 3.7. Evolución del índice de germinación (IG) de granos de cada cultivar de cebada provenientes de parcelas control (a) y bajo sequía (b), en el año 2004. La línea discontinua representa el patrón medio de salida de la dormición para cada situación, promediado entre todos los genotipos de cebada analizados	100
Figura 3.8. Modelo general de la relación entre el $IG_{20-10\%CHG}$ y la temperatura durante la ventana de sensibilidad (Capítulo 2), incluyendo datos de todos los cultivares analizados (excepto B1215). Los puntos destacados corresponden a los valores de IG para las diferentes variedades de cebada bajo tratamiento de sequía durante el llenado de granos (H_2O - N^+ , símbolos vacíos) y sus respectivos controles bien regados (símbolos llenos), en los años experimentales 2004 (símbolos gris claro) y 2005 (símbolos gris oscuro)	103
Figura 3.9. Modelo conceptual del efecto combinado de la temperatura durante la ventana de sensibilidad (<i>sensu</i> Capítulo 2) y del estrés hídrico durante el llenado sobre la dinámica de salida de la dormición en cultivos de cebada cervecera. Se superponen los datos de las parcelas irrigadas utilizados para desarrollar el modelo general para predecir la susceptibilidad a BPC (Capítulo 2; círculos), y los datos de los ensayos de baja disponibilidad hídrica realizados en los años 2004 (tratamientos H_2O - N^+ y H_2O - N^- ; triángulos comunes) y 2005 (tratamiento H_2O - N^+ ; triángulos invertidos)	106
Figura 4.1. Evolución de la viabilidad (%) a lo largo del tiempo de envejecimiento acelerado de lotes de cebada cervecera sometidos a distintos tratamientos de pre-germinado, para tres cultivares diferentes	114

-
- Figura 4.2.** Relación entre la longevidad potencial (K_i) de lotes de cebada cervecera y sus valores de Falling Number (FN), para tres cultivares diferentes 115
- Figura 4.3.** Modelo General de la relación K_i -FN construido con datos de las tres variedades de cebada analizadas en 2009. Los círculos vacíos representan un set de datos independiente, incluyendo datos de los cvs. Quilmes Ayelén, Scarlett, MP546, MP1010 y MP1109 (evaluados en el año 2006) y de Q. Palomar (Del Fueyo *et al.* 1999) 117
- Figura 4.4.** Valores de K_i predichos vs. observados de los lotes de campo. La predicción fue realizada a partir del FN de los mismos, mediante el Modelo General desarrollado en 2009 118

ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
BPC	Brotado pre-cosecha
DPA	Días post-antesis
FN	Falling Number
IG	Índice de germinación
K_i	Longevidad potencial
MC	Madurez de cosecha
MF	Madurez fisiológica
PS_r	Peso seco de grano relativo
T_m	Temperatura media
ABA	Ácido abscísico
Fn	Fotoperíodo natural
TT	Tiempo térmico
T_{md}	Temperatura media diaria
T_b	Temperatura base
$^{\circ}\text{Cd}$	Grados-día
TTDA	Tiempo térmico acumulado desde antesis
DDMF	Días desde madurez fisiológica
%CHG	Contenido hídrico relativo en grano
GAs	Giberelinas

BROTADO PRE-COSECHA Y PRE-GERMINADO EN CEBADA CERVECERA:
PREDICCIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD DEL CULTIVO BASADA EN EL
AMBIENTE Y MANEJO POS-COSECHA DE LOS GRANOS DAÑADOS

RESUMEN

El grano de cebada cervecera (*Hordeum vulgare* L.) debe conservar su capacidad germinativa para poder ser malteado. El brotado pre-cosecha (BPC) y el pre-germinado obstaculizan la consecución de este objetivo. El objeto de esta tesis fue desarrollar conocimientos y herramientas tecnológicas que permitan manejar la susceptibilidad a estas adversidades en pre- y pos-cosecha del cultivo. Se evaluó el efecto del ambiente durante el llenado de granos sobre la dinámica de salida de la dormición y la susceptibilidad a BPC del cultivo y se estudiaron relaciones entre el nivel de pre-germinado y la longevidad potencial (K_i) de lotes de cebada, en los principales cultivares comerciales de uso actual en Argentina. Ni la disponibilidad de nitrógeno del suelo ni el fotoperíodo medio durante el llenado tuvieron efectos sobre el nivel de dormición de los granos y la susceptibilidad a BPC del cultivo. La baja disponibilidad hídrica durante el llenado y las altas temperaturas imperantes durante las últimas etapas de este período aumentaron la susceptibilidad a BPC en todos los cultivares con resistencia intermedia a brotado, existiendo interacción entre ambos factores ambientales. Se desarrollaron modelos predictivos de la susceptibilidad a BPC basados en los efectos del ambiente térmico, para cada cultivar. Si la susceptibilidad es alta y existe pronóstico de lluvias el productor de cebada puede anticipar la cosecha y secar artificialmente. El pre-germinado no afectó la viabilidad inicial pero sí la longevidad potencial de los lotes de cebada. Se encontraron asociaciones positivas entre este último parámetro y el valor de Falling Number de los lotes. Esto permite la predicción de la viabilidad de un lote de cebada durante su almacenamiento en la maltería, y el diseño de las condiciones de almacenaje según el nivel de daño por pre-germinado y los requerimientos de la industria.

Palabras clave: Cebada cervecera, *Hordeum vulgare* L., Brotado pre-cosecha, Pre-germinado, Dormición, Viabilidad, Longevidad potencial, Falling Number, Manejo agronómico, Efectos ambientales.

PRE-HARVEST SPROUTING AND PRE-GERMINATION IN MALTING BARLEY:
CROP SUSCEPTIBILITY PREDICTION BASED IN GRAIN FILLING
ENVIRONMENT AND POST-HARVEST MANAGEMENT OF DAMAGED GRAIN

ABSTRACT

Malting barley (*Hordeum vulgare* L.) grain must maintain its germination capacity for malting purposes. Pre-harvest sprouting (PHS) and pre-germination of grains on the field impede to get this objective. The goal of this thesis was to develop knowledge and technological tools in order to manage susceptibility to these adversities at pre- and post-harvest crop stages. Environment effects during grain filling period on grain dormancy release pattern and crop PHS susceptibility were evaluated, and relationships between pre-germination level and potential longevity (K_i) of barley seed lots were studied, for commercial cultivars widely grown in Argentina. Neither soil nitrogen availability nor average photoperiod during grain filling had effects on grain dormancy level and crop PHS susceptibility. Low water availability during grain filling and high air temperatures during last stages of this period increased PHS susceptibility in all cultivars with intermediate sprouting-resistance, pointing out an interaction between both environmental factors. Thermal-environment effects based models were developed for prediction of crop PHS susceptibility, for each barley cultivar. If a high PHS susceptibility combines with rainy weather forecast close to harvest the barley grower could anticipate crop harvest and dry artificially. Grain pre-germination did not affect initial viability, but do the K_i of barley seed lots. Positive associations between this last parameter and Falling Number lot values were found. This allows to predict viability of a barley seed lot during malthouse storage and, hence, to design storage environment conditions according to the level of pre-germination damage and the industry requirements.

Key words: Malting barley, *Hordeum vulgare* L., Pre-harvest sprouting, Pre-germination, Seed dormancy, Seed viability, Potential longevity.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1. Implicancias de la dormición en la producción y utilización de cultivos de granos

La dormición es una característica interna de las semillas que impide su germinación bajo condiciones térmicas, hídricas y gaseosas que de otra manera serían adecuadas para este proceso (Benech-Arnold *et al.* 2000a). La dormición cumple un papel ecológico muy importante, ya que constituye una ventaja adaptativa para la perpetuación y el éxito biológico de muchas especies vegetales. La dormición permite distribuir la germinación de las semillas en el tiempo, evitando así la competencia por recursos entre individuos de la misma especie; y además permite ubicar el crecimiento y desarrollo de las plantas bajo condiciones ambientales más favorables (Karssen 1982; Bewley y Black 1994; Benech-Arnold *et al.* 2000a). Por otro lado, la dormición también favorece la distribución espacial de la germinación, favoreciendo así la dispersión de la especie (Bewley y Black 1994).

Aunque su significado adaptativo es evidente para las plantas silvestres, la dormición constituye un problema en semillas de especies cultivadas (e.gr., los cereales), generándose múltiples inconvenientes tanto por un exceso de la misma como por su bajo nivel. La presencia de dormición en los granos luego de la cosecha impide su inmediata utilización para aquellos usos en los que se requiere la germinación de los mismos. Por lo tanto, un alto nivel de dormición constituye una característica indeseable cuando el destino de los granos es el establecimiento de un nuevo cultivo (i.e., grano para semilla) o la industria del malteado. Generalmente la persistencia de dormición luego de la cosecha no causa mayores problemas cuando la utilización del grano y su germinación tienen lugar algún tiempo después de la cosecha. Es el caso del grano utilizado para semilla. Entre la cosecha de la misma y su utilización suele transcurrir algunos meses, tiempo suficiente para que las simientes vayan perdiendo gradualmente su dormición a lo largo del almacenamiento y lleguen a la época de siembra con un nivel de dormición prácticamente nulo. Este proceso se conoce con el nombre de pos-maduración, y tiene lugar en una amplia variedad de especies vegetales (Bewley y Black 1994). Sin embargo, en algunas ocasiones en que la semilla es sembrada poco tiempo después de cosechada (e.gr., producción continua en invernaderos o en climas tropicales, o siembra en contraestación o a altas latitudes) (Belderok 1968) o cuando la dormición es muy persistente pueden aparecer complicaciones con el establecimiento del nuevo cultivo. La semilla de girasol (*Helianthus annuus* L.) se caracteriza por presentar un alto nivel de dormición a madurez de cosecha, el cual puede persistir por muchos meses, ocasionando inconvenientes al momento de establecer el próximo cultivo (Cseresnyes 1979; Corbineau y Côme 1987; Corbineau *et al.* 1990). El rendimiento de esta oleaginosa es particularmente sensible a la distribución y uniformidad del stand de plántulas dentro del lote (Wade *et al.* 1988). La presencia de dormición en girasol no sólo disminuye el porcentaje de semillas que germina sino que, aún a bajos niveles de dormición, afecta negativamente el vigor de las plántulas. Esto provoca una menor tasa de crecimiento y desuniformidad temporal en la emergencia del cultivo, especialmente bajo condiciones ambientales desfavorables para la germinación y el crecimiento de las plántulas (Finch-Savage y Leubner-Metzger 2006).

Sin lugar a dudas, los mayores problemas por exceso de dormición tienen lugar cuando la germinación del grano se requiere inmediatamente después de la cosecha. Esta situación ocurre comúnmente en el proceso industrial de malteado. En este sentido, son ampliamente conocidos los problemas ocasionados por lotes de granos de cebada cervecera (*Hordeum vulgare* L.) excesivamente dormidos. La remoción de esta dormición por medios químicos (Benech-Arnold 2004) o a través del almacenamiento de los granos por un período variable con el fin de recuperar su capacidad germinativa determina que avance el deterioro fisiológico de las simientes y hace incurrir en costos de diversa índole que podrían evitarse en ausencia de dormición (Carn 1980; Corbineau y Côme 1996; Benech-Arnold 2001).

La dormición excesivamente corta en las semillas también constituye un problema para la producción de cultivos de granos. La presente tesis estudia esta problemática. La presión de selección en contra del carácter dormición ejercida por el hombre desde los comienzos de la agricultura y a través de miles de años de domesticación hizo que las semillas de muchas variedades de especies cultivadas pierdan la dormición durante su desarrollo y en las etapas previas a la cosecha (Li y Foley 1997; Copeland y McDonald 2001; Benech-Arnold 2004; Pourkheirandish y Komatsuda 2007). Esta pérdida anticipada de la dormición generó nuevos problemas en la producción de cultivos de granos como son el pre-germinado y el brotado pre-cosecha. Cuando el nivel de dormición es bajo y la temperatura adecuada un breve período (menor a 24 h) de exposición al agua de lluvia en el campo es suficiente para disparar el crecimiento del embrión (Benech-Arnold 2001). El proceso germinativo iniciado en la planta madre luego se interrumpe por desecación (i.e., cuando deja de llover), antes o poco después de que ocurra la protusión de la radícula. Este fenómeno se conoce con el nombre de pre-germinado, y puede o no presentar evidencias visibles. En este caso los granos conservan su viabilidad pero se reduce dramáticamente la longevidad potencial de los mismos (Del Fueyo *et al.* 1999, 2003). Si las condiciones de humedad persisten en el campo, el proceso de germinación puede continuar más allá del punto de no retorno, momento a partir del cual el embrión pierde la tolerancia a la desecación (Schoper *et al.* 1979). Este fenómeno se conoce como brotado pre-cosecha (BPC) e implica una pérdida inmediata de la viabilidad. En este caso normalmente se observa la emisión de la radícula.

Aún cuando ha sido observado en muchas especies cultivadas, el BPC es característico de los cultivos de cereales (Fig. 1.1). El trigo pan (*Triticum aestivum* L.) y la cebada cervecera (*Hordeum vulgare* L.) son comúnmente afectados por esta adversidad en diferentes regiones del mundo. La presente tesis estudia la problemática del BPC y pre-germinado en esta última especie. El centeno (*Secale cereale* L.) es particularmente susceptible a sufrir daños por brotado debido a que la estructura abierta de las glumas, que permite la polinización cruzada en esta especie, favorece que el agua de lluvia alcance el grano fácilmente (Derera 1989a). Esto también sucede con el triticale (*xTriticosecale* Wittmack). El cultivo de avena (*Avena sativa* L.) también es susceptible a BPC, pero sus consecuencias no son tan graves dado que el principal destino de este cereal es la alimentación animal. Las variedades de arroz (*Oryza sativa* L.) Japonica, usualmente cultivadas en regiones templadas, sufren brotado más

fácilmente que las Indica cultivadas en los trópicos, las cuales son altamente resistentes (Yamaguchi *et al.* 1998). Generalmente, el cultivo de maíz (*Zea mays* L.) no presenta problemas de brotado gracias a que los granos se encuentran protegidos de la humedad por la chala y otros tejidos vegetativos que envuelven a la espiga. Los cultivos de sorgo granífero [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] y mijo perla [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.] son típicos de zonas semiáridas, por lo cual rara vez se reportan episodios de brotado. Sin embargo, estas especies son particularmente susceptibles a sufrir BPC cuando son cultivadas en áreas más húmedas, si las condiciones son apropiadas (Benech-Arnold y Sánchez 2003).

Los problemas ocasionados por un bajo nivel de dormición son poco frecuentes en los cultivos oleaginosos (Benech-Arnold 2004). Por ejemplo, no se han reportado grandes episodios de BPC en las oleaginosas más importantes (i.e., soja, girasol y canola); a pesar de que las semillas de soja [*Glycine max* (L.) Merr.] y canola (*Brassica campestris* L., *Brassica napus* L.) adquieren la capacidad de germinar tan pronto como alcanzan la madurez fisiológica (MF) en la planta madre. Este comportamiento se debe a la protección que otorgan las estructuras que rodean a estas semillas. Los granos de soja y canola se desarrollan dentro de legumbres y silicuas, respectivamente, lo que impide el contacto directo de los mismos con el agua de lluvia en el campo (Benech-Arnold 2004). Sin embargo, Barthet y Daun (2005) han reportado un episodio de brotado en canola ante condiciones extremas de humedad, aunque no hallaron diferencias significativas en la calidad y composición del aceite con hasta un 10% de semillas dañadas.



Figura 1.1. Brotado pre-cosecha en diferentes especies de cereales: a) cebada cervecera; b) sorgo granífero; c) trigo pan; d) maíz.

1.2. Consecuencias del BPC y pre-germinado

Los fenómenos de BPC y pre-germinado presentan distintas consecuencias negativas sobre la calidad de los granos y sobre su capacidad germinativa. Estas adversidades reducen la calidad panadera de los cereales, siendo sus efectos intensamente estudiados en trigo (Kulp *et al.* 1983; Lorenz 1983). La preparación de la

masa con harina obtenida a partir de granos brotados altera sus propiedades reológicas, dificultando el amasado, procesado y otras operaciones de la panificación. Así disminuye la calidad de los productos de consumo elaborados (panes, tortas, fideos, etc.) (Lorenz y Valvano 1981; Lorenz 1983; Kruger *et al.* 1995; Nagao 1995). Además, estas adversidades reducen el rendimiento en grano de los cultivos (debido a una mayor tasa respiratoria de los granos), disminuyen el peso hectolítrico y aumentan la susceptibilidad al ataque de hongos saprofitos (Castor y Frederiksen 1977; Benech-Arnold y Sánchez 2003).

Una mención especial merecen los efectos nocivos de estas adversidades sobre la capacidad germinativa de los granos. Dado que el BPC causa la pérdida inmediata de viabilidad, dependiendo del nivel de daño, el lote de granos puede quedar inutilizado para aquellos usos que requieran germinación (i.e., malteado, semilla). En trigo, se observaron reducciones en el vigor, la velocidad de emergencia y el stand final de plantas logrado y un aumento de la fitotoxicidad a los agroquímicos aplicados a la simiente (i.e., curasemillas) cuando se utilizaron semillas afectadas por BPC/pre-germinado en la siembra (Elias y Copeland 1991; Chastain *et al.* 1994).

Por otro lado, el pre-germinado reduce la longevidad potencial de un lote de granos y su almacenabilidad. En este caso, si bien los granos conservan su viabilidad, se adelanta el momento a partir del cual los mismos comienzan a perder su capacidad germinativa (Del Fueyo *et al.* 1999, 2003; Benech-Arnold y Sánchez 2003).

Los estándares de comercialización tienen una baja tolerancia para la presencia de granos brotados, con lo cual esta adversidad frecuentemente reduce el grado comercial del lote, con las consecuentes rebajas de precio y la reducción del ingreso económico al productor. En EE.UU., un 4% de granos dañados, incluyendo los brotados, provoca que un lote de trigo de calidad superior (“hard wheat”) sea rebajado al grado 3 o incluso uno menor. En Argentina, las normas de comercialización de trigo señalan una tolerancia de granos dañados (incluyendo los brotados) de 1, 2 y 3% para los Grados 1, 2 y 3, respectivamente (SAGyP 1994). Aún así, en algunas ocasiones, el BPC puede aumentar el valor nutricional de los granos para alimentación animal (Blaney y Williams 1991), incrementando su palatabilidad y digestibilidad (Paulsen y Auld 2004).

1.3. Pérdidas económicas causadas por BPC

El BPC en cultivos de cereales es un problema en muchas partes del mundo. En algunas regiones productoras de trigo esta adversidad se presenta con una frecuencia de 3-4 años cada 10. Se detectan episodios de brotado en Estados Unidos, Canadá, países del norte y oeste de Europa, Nueva Zelanda y Australia, y también en China, regiones centrales de Sudamérica y sur de África (Fig. 1.2). Durante la campaña 1997, en China se vieron afectadas por brotado casi 25 millones de ha de trigo, un 83% de la superficie total sembrada en ese país (Xiao *et al.* 2002). Según un extenso relevamiento realizado en 37 países por Derera (1989b) las pérdidas directas debido a BPC ascendieron a una media anual de 450 millones de dólares estadounidenses entre 1978 y 1988,

principalmente provenientes del cultivo de trigo. Sin embargo, esta estimación no incluye a importantes países productores de cereales como China, India, los países de la ex-URSS y Argentina. Actualmente es factible que las pérdidas directas a nivel mundial debido a este problema alcancen los mil millones de dólares estadounidenses anuales (Derera 1989b).

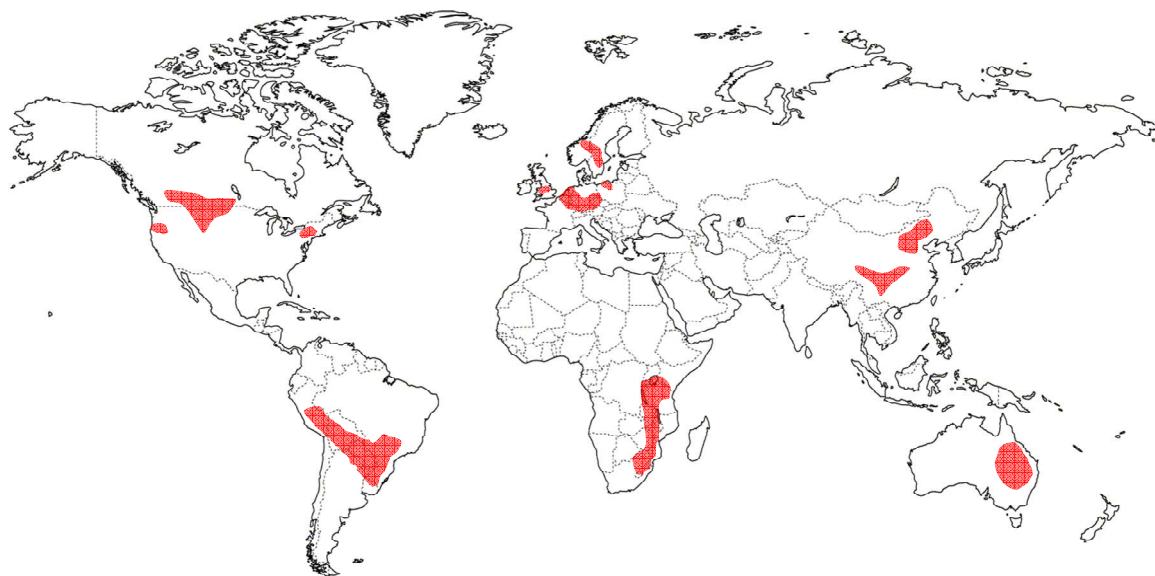


Figura 1.2. Zonas agrícolas con frecuentes episodios de BPC en cultivos de cereales.

A diferencia de lo que ocurre en otros países del mundo donde el BPC en los cereales de invierno es un problema recurrente, bajo las condiciones agroecológicas de las principales zonas de producción de Argentina (clima templado-cálido y seco a cosecha) este problema no suele presentarse con gran frecuencia. Sin embargo, en nuestro país el BPC origina pérdidas económicas en ciertos cultivos: cebada cervecera y sorgo granífero, y también en el cultivo de trigo en algunas regiones (Noroeste Argentino, NOA). Las causas de estos problemas son varias. Generalmente, los cultivares de cebada son mejorados para que presenten un escaso nivel de dormición a cosecha, aumentando la susceptibilidad del cultivo a sufrir daños por brotado. En las zonas habituales de producción de sorgo y en los cultivos de trigo sembrados en el NOA el momento de cosecha coincide con lluvias persistentes (lluvias otoñales y clima monzónico, respectivamente), incrementándose el riesgo a sufrir BPC. En la campaña agrícola 1996/97, episodios de brotado de excepcional magnitud tuvieron lugar en cultivos de trigo y cebada del sudeste y sudoeste de la provincia de Buenos Aires (Benech-Arnold 1997; Vallati 1997), estimándose pérdidas de hasta 30% de la producción. Las lluvias de intensidad fuera de lo común previas a la cosecha fueron el detonante. En el caso del trigo, la intensidad de los daños y las mermas de calidad de los granos fueron tales que forzaron la necesidad de crear un nuevo estándar (“trigo forrajero”) para facilitar su comercialización. Más recientemente, en el año 2001 también lluvias extraordinarias alrededor de la cosecha produjeron severos daños por

brotado en cultivos de cebada cervecera, particularmente en el cultivar B1215, de muy baja dormición, dejando a esta variedad prácticamente fuera del mercado (Miralles 2007).

Existen además pérdidas indirectas asociadas al BPC. Cuando los exportadores de cereales no son capaces de asegurar en sus embarques una calidad más o menos estable a lo largo del tiempo se pueden perder mercados tradicionales (Briggle 1979). Lotes de cebada con un porcentaje de viabilidad menor al 95% generalmente son rechazados por las malterías (Brookes 1980; Bason *et al.* 1993; SAGPyA 2000). Las normas de comercialización australianas clasifican los lotes de trigo según su valor de Falling Number, un indicador de calidad que, entre otros factores, tiene en cuenta el nivel de brotado/pre-germinado de los granos (ver más adelante).

En muchas ocasiones los granos de cultivares resistentes a BPC presentan una menor calidad y un menor valor con respecto a los de variedades susceptibles, siendo necesario limitarse al cultivo de los primeros en zonas de alta humedad ambiental. Por ejemplo, en ciertas zonas húmedas de China los productores se encuentran forzados a cultivar variedades de trigo rojo en lugar del trigo pan (de mejor calidad) debido a la mayor resistencia a brotado del primero.

1.4. Medición de BPC y pre-germinado

Existen varios métodos para cuantificar el grado de brotado de una muestra, y su elección depende del objetivo y de la precisión requerida del test (Paulsen y Auld 2004). El conteo visual de los granos brotados y el Hagberg Falling Number son los métodos más comúnmente usados para muestras comerciales. El conteo visual es una de las primeras, obvias y más fáciles evaluaciones que existen para determinar el grado de daño de un lote de granos. Sin embargo, la subjetividad de este método y su baja precisión (alta variabilidad entre “lecturas”) lo hacen inviable para uso experimental. Además, los granos sufren daños de importancia comercial antes de que aparezcan las primeras evidencias visibles de brotado (i.e., emisión de radícula) (Jensen *et al.* 1984). Durante el pre-germinado las reacciones enzimáticas derivadas del inicio del proceso germinativo (la germinación no llega a completarse debido a condiciones ambientales desfavorables) producen la degradación de reservas, provocando diversos efectos nocivos. El nivel de pre-germinado de una muestra se puede medir con diferentes métodos, todos ellos relacionados de manera directa o indirecta con la actividad enzimática que tiene lugar en las primeras etapas de la germinación. Entre los métodos indirectos más utilizados podemos mencionar (Paulsen y Auld 2004):

- 1) **Hagberg Falling Number (FN):** mide el tiempo (segundos) que un émbolo necesita para atravesar una masa preparada con grano entero o harina. Los valores van desde 60 segundos para grano con intenso daño por brotado hasta 500 seg o más para grano de excelente calidad. Es un método simple, rápido y con buena precisión. Se requiere una muestra de grano de 300 g para que sea lo suficientemente representativa y 7 g para el ensayo (Hagberg 1960; Perten 1964; AACC 2000b).

- 2) **Stirring Number (SN):** se utiliza el instrumental Rapid Visco Analyzer (Foss Technology Corp., Eden Prairie, MN). Es otro método de análisis de la viscosidad. Usa una muestra más pequeña (4 g) que el FN (Ross *et al.* 1987; Bason *et al.* 1993; AACC 2000a).

La medición de estos métodos físicos se encuentra afectada por el tamaño de la muestra, la temperatura, la calidad del agua utilizada para la preparación de la masa, y también por la presión atmosférica (Tipples 1971; Lorenz y Wolt 1981; Koeltzow y Johnson 1993).

Entre los métodos directos se encuentran:

- 3) **Carlsberg:** detecta la actividad de una lipasa que se sintetiza en las primeras etapas de la germinación. Los granos pre-germinados evidencian una fluorescencia amarilla (Jensen y Heltved 1983; ASBC 1999).
- 4) **Actividad Alfa-Amilasa:** cuantifica la concentración de la enzima α -amilasa presente en los granos. Esta enzima es sintetizada durante el inicio de la germinación, y es la responsable de la degradación de los tejidos de reserva del endosperma que permite sostener el crecimiento de la plántula durante las primeras etapas. Una mayor actividad indica un mayor nivel de pre-germinado. Existen reactivos y kits comerciales para su determinación (Skerritt y Heywood 2000).

Además de los métodos explicados anteriormente, el test de tetrazolio también es utilizado para detectar brotado y pre-germinado en granos de cebada.

- 5) **Tinción con Tetrazolio:** Las semillas bisectadas (corte longitudinal) son incubadas en una solución de cloruro de tetrazolio, observándose luego el patrón de tinción en los tejidos del embrión (EBC 1997). Sólo aquellos tejidos que están vivos y respiran adquieren un color rojo intenso de manera localizada (i.e., los granos brotados presentan escasa/nula tinción de sus embriones). Además, el movimiento de la radícula y/o de los tejidos que forman el talluelo indica pre-germinado. Este método es usado rutinariamente por la industria maltera del Reino Unido, aunque conlleva una alta dosis de subjetividad y los resultados dependen de la experticia del evaluador. Con el fin de estandarizar y facilitar la evaluación de lotes mediante este test, en 2004 la Home-Grown Cereals Authority (HGCA) del Reino Unido difundió un conjunto de imágenes mostrando patrones de tinción en granos de cebada con distinto nivel de pre-germinado (Hook 2004). Dado que este test no distingue entre granos dormidos y no dormidos (i.e., despiertos) el mismo se suele complementar con un ensayo de germinación (el cual no discrimina entre granos dormidos y no viables), donde se evalúa el porcentaje de germinación a las 24 y 48 h de incubación. Es mediante el uso combinado de ambos métodos (tetrazolio y ensayo de germinación) que se pueden cuantificar, dentro de un lote de granos, las fracciones de granos viables despiertos, viables dormidos y no viables.

1.5. Mejoramiento genético contra BPC

Analizando la problemática del BPC desde la perspectiva del mejoramiento genético, los mejoradores se enfrentan a situaciones de distinta complejidad según el uso que se le dará al grano de la variedad que se pretende mejorar. Como se dijo anteriormente, el mantenimiento de un alto nivel de dormición hasta los últimos estados de desarrollo y maduración de las semillas incrementa, aunque no garantiza, la resistencia del cultivo a BPC (Steinbach *et al.* 1995). Entonces, el mejoramiento en pos del aumento del nivel de dormición a cosecha sería una salida obvia y fácil al problema. Sin embargo, esta estrategia puede generar inconvenientes por exceso de dormición, de diferente relevancia según sea el destino final de los granos. Si el destino es la alimentación humana y/o animal, es decir usos que no requieren germinación, no habría mayores complicaciones en aumentar el nivel de dormición a cosecha para obtener granos con alta resistencia al brotado. De la misma forma, si el destino es la producción de semilla, los mejoradores podrían aumentar la dormición de los granos siempre y cuando no se comprometan las siembras futuras (en la mayoría de las especies y situaciones la dormición se pierde totalmente a la siembra de la próxima campaña). En cambio, ajustar la ventana de salida de la dormición al requerimiento de utilización inmediata de los granos de ciertos procesos industriales (i.e., malteado) sin comprometer la resistencia a BPC constituye una tarea en extremo difícil (Ullrich *et al.* 2009). El genotipo ideal (ideotipo) en cebada cervecera sería aquel cuya dinámica de salida de la dormición presente el siguiente patrón: hasta madurez de cosecha (MC) los granos deberían poseer un nivel de dormición lo suficientemente alto como para que el cultivo no sea susceptible a BPC; después de MC, los granos tendrían que perder rápidamente su dormición (i.e., en días), a fin de posibilitar su utilización inmediata (germinación rápida y uniforme) (Prada *et al.* 2004) (Fig. 1.3).

Entre las causas por las cuales los mejoradores aún no han logrado controlar la herencia de este carácter en cereales se puede destacar que la dormición fisiológica es un carácter cuantitativo y de origen complejo, que involucra múltiples genes. El análisis de QTL (Quantitative Trait Loci) permite identificar regiones del genoma que contienen genes asociados con la dormición. En cebada se identificaron cuatro QTLs relacionados con la dormición de los granos (SD1 a SD4) (Han *et al.* 1996). SD1 está involucrado en la imposición y el mantenimiento de la dormición durante el desarrollo de los granos, mientras que la salida de la dormición después de la cosecha se encuentra regulada principalmente por SD2 (Prada *et al.* 2004). Por lo tanto, con la asistencia de marcadores moleculares se podría lograr un grano de cebada con un nivel de dormición adecuado. La introducción de un alelo SD1 permitiría reducir la susceptibilidad a brotado pre-cosecha, mientras que la incorporación de un alelo SD2 posibilitaría una germinación rápida y uniforme del grano en la maltería pocos días después de la cosecha (Gubler *et al.* 2005). Sin embargo, todavía no existen evidencias de que estos alelos funcionen en otros fondos genéticos (i.e., cuando son introducidos en cultivares distintos a los parentales usados en el análisis de QTL).

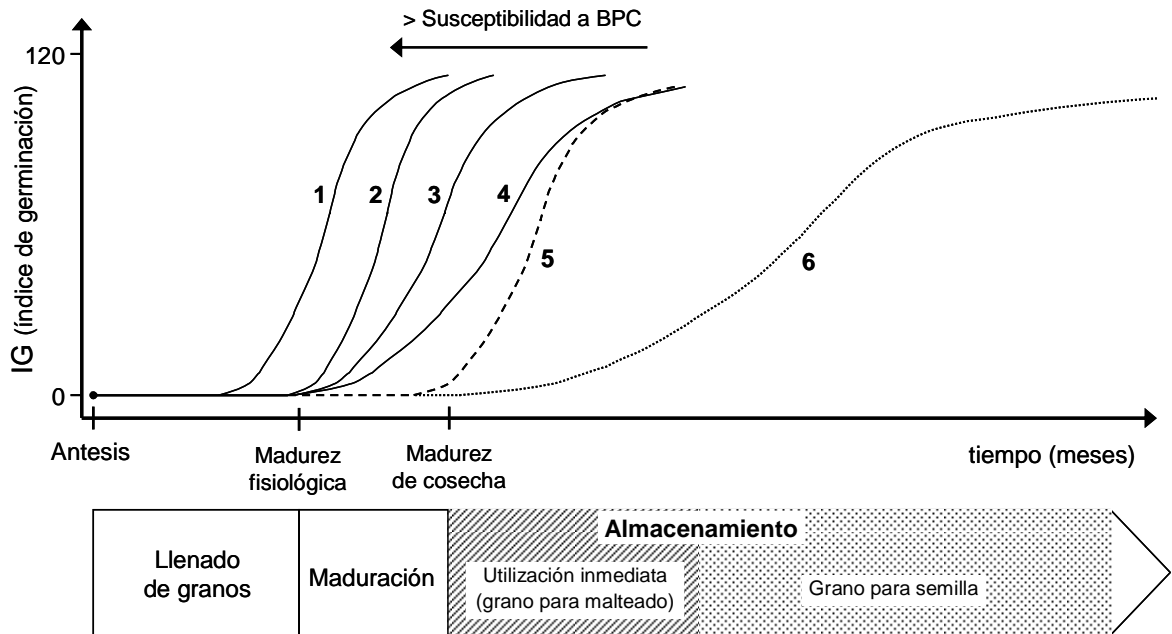


Figura 1.3. Esquema mostrando diferentes tipos de dinámicas de salida de la dormición y de adquisición de la capacidad germinativa en cultivos de granos: [1, 2, 3, 4] genotipos con diferente momento y tasa de salida de la dormición y distinta susceptibilidad a BPC; [5] genotipo ideal para malteado (rápida salida de la dormición luego de madurez de cosecha); [6] genotipo ideal para la producción de semilla (menor velocidad de salida de la dormición, pero adquiere el 100% de su capacidad germinativa antes de la siembra de la próxima campaña agrícola).

1.6. La falta de dormición y sus consecuencias sobre la viabilidad de las semillas

La longevidad de la semilla es el período hasta la muerte de la misma (Roberts 1961). La duración de este período es modulada por factores genéticos y ambientales (Mackay y Tonkin 1967). Entre estos últimos se encuentran los del ambiente pre-cosecha (i.e., el experimentado por las semillas durante su desarrollo y maduración) (Justice y Bass 1978) y pos-cosecha (i.e., las condiciones de almacenamiento) (Barton 1961; Roberts 1961, 1972). Otros factores que también tienen influencia sobre la longevidad de las semillas son el estado de madurez con que las mismas se cosechan (Priestley 1986; Kameswara Rao *et al.* 1991; Pieta Filho y Ellis 1991; Ellis *et al.* 1993), la temperatura de secado (Ellis y Roberts 1980a; Giner *et al.* 1991; Gooding y Davies 1997; Sánchez *et al.* 2008), y también el tratamiento mecánico dado a los granos durante el acarreo y movimiento de los mismos (Sorlino y Benech-Arnold 2003).

Para aquellos usos en los que se requiere la germinación del grano (e.gr., malteado o grano para semilla) se exigen altos estándares de calidad, principalmente en lo que a viabilidad respecta. Idealmente, se intenta contar con la máxima viabilidad por el mayor tiempo posible. Es decir, se busca que el porcentaje de semillas viables al inicio del almacenamiento (i.e., viabilidad inicial) sea el máximo posible, y que la pérdida de esta viabilidad se produzca a la menor tasa posible. Tanto el brotado pre-

cosecha como el pre-germinado obstaculizan la consecución de este objetivo. El brotado disminuye la viabilidad inicial de un lote de semillas mientras que el pre-germinado disminuye la longevidad potencial del lote (parámetro que considera la viabilidad inicial y el tiempo hasta que comienza el deterioro y la pérdida de viabilidad). La detección y medición del fenómeno de brotado es una tarea de relativamente fácil realización dados los signos visuales que presentan los granos afectados (i.e., emisión de radícula). En cambio, cuantificar el grado de pre-germinado de un lote de granos se torna mucho más difícil debido a, generalmente, la ausencia de estos signos. Diversos métodos se han implementado para medir la incidencia de esta adversidad (ver más arriba).

La evolución de la viabilidad de un lote de semillas durante el almacenamiento de cualquier especie ortodoxa (entre las que se incluye la cebada) describe una función normal acumulada negativa (Roberts 1961). Al igual que la longevidad, esta evolución depende de factores genéticos (i.e., especie y cultivar) y del ambiente explorado en pre-cosecha (i.e., durante el llenado y maduración de los granos) y en pos-cosecha (i.e., durante el acondicionamiento y almacenamiento). Los trabajos de Ellis y Roberts permitieron describir esta evolución, mediante la Ecuación Universal de la Viabilidad (Ellis y Roberts 1981; Ec. 1.1). Esta ecuación permite predecir la viabilidad de un lote de semillas a lo largo del tiempo de almacenamiento en función de las condiciones ambientales durante el mismo (humedad de los granos y temperatura), según:

$$V = K_i - p/\sigma = K_i - p/10^{(K_E - C_W \log MC - C_H T - C_Q T^2)} \quad [\text{Ec. 1.1}]$$

donde: V es el porcentaje de viabilidad en unidades Probit del lote de semillas luego de un período p (días) de almacenamiento, con un contenido de humedad de las simientes MC (porcentaje en base húmeda) y temperatura T (°C) dados. El uso de la escala Probit permite linealizar la función normal acumulada negativa (Finney 1962), simplificando la modelización de la realidad y facilitando la predicción de la viabilidad en un momento dado del almacenaje. K_i (ordenada al origen de la función) es una medida de la longevidad potencial de la población de semillas o constante del lote, y σ es el desvío estándar de la distribución de la probabilidad de muertes de semillas en el tiempo. El parámetro K_i depende del genotipo y del ambiente explorado por las semillas en las etapas previas al almacenaje (Fig. 1.4a). El parámetro σ está determinado por la tasa de deterioro fisiológico de las simientes: cuanto mayor es esa tasa menor es el desvío. La tasa de deterioro fisiológico de un lote de semillas depende de la especie y de las condiciones de almacenamiento, siendo la temperatura y el contenido de humedad de la simiente los factores determinantes (Barton 1961; Roberts 1961, 1972). Altas temperaturas y altos contenidos de humedad de las semillas incrementan la velocidad con que las mismas se deterioran. (Fig. 1.4b). Harrington (1972) postuló dos reglas que describen la acción de ambos factores: la longevidad de una semilla se duplica 1) cada vez que se reduce el contenido de humedad de las semillas en un 1%; y 2) cada vez que la temperatura de almacenaje disminuye en 5°C. Estas reglas son válidas sólo dentro de un rango de condiciones (i.e., contenidos de humedad entre 5-14%; y temperaturas

$>0^{\circ}\text{C}$). K_E , C_W , C_H y C_Q son constantes, propias de cada especie, que reflejan la respuesta a la condición de almacenamiento (temperatura y contenido de humedad del grano). Dada esta universalidad, la respuesta de todos los cultivares de una especie es descrita por las mismas constantes. La Ecuación de Viabilidad tiene aplicación dentro de ciertos valores de contenidos de humedad de las semillas, siendo los límites superiores e inferiores dependientes de cada especie (Ellis y Roberts 1981).

En esta ecuación, todos los parámetros/constantes son medianamente fáciles de medir o conocer, excepto la longevidad potencial o constante de lote (K_i) (Del Fueyo *et al.* 1999). El contenido de humedad de los granos y la temperatura de almacenamiento son variables comúnmente registradas por los bancos de semillas y acopiadores, y los valores de las constantes están tabulados para un gran número de especies cultivadas e incluso disponibles en Internet (Flynn y Turner 2004, <http://data.kew.org/sid/viability/index.html>). En cambio, con la determinación de la K_i aparecen algunas complicaciones. Este parámetro es propio de cada lote, ya que depende del cultivar y de las condiciones ambientales experimentadas durante el llenado y maduración de los granos (Mackay y Tonkin 1967; Pieta Filho y Ellis 1991; Ellis *et al.* 1993; Kameswara Rao y Jackson 1996). Su determinación no es sencilla: groseramente el valor de K_i puede ser estimado a partir de un ensayo de germinación realizado al comienzo del almacenaje o, más precisamente, a través de un test de envejecimiento acelerado que dura varios días (Ellis y Roberts 1980a). Cualquiera de las dos formas demanda, en menor o mayor medida, cierto tiempo y trabajo de laboratorio. A causa de ello, la aplicación de la Ecuación de Viabilidad se haya restringida a la conservación de recursos genéticos (manejo del almacenamiento a muy largo plazo de semillas, i.e. bancos de germoplasma) (Ellis 1991; Pritchard y Dickie 2004), resultando escaso su uso a escala industrial (i.e., manejo pos-cosecha de granos) (Del Fueyo *et al.* 1999).

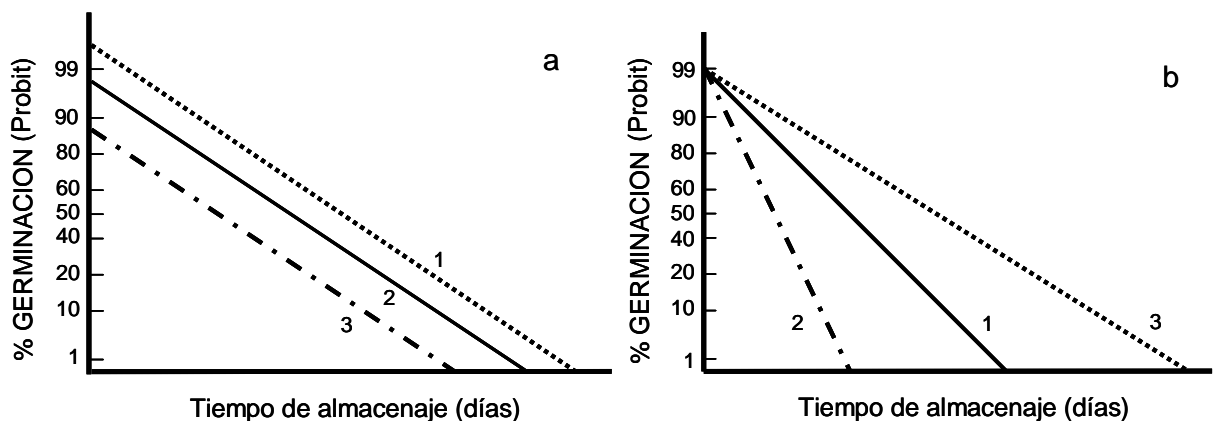


Figura 1.4. Evolución del % de germinación (escala Probit) durante el período de almacenaje para: a) tres lotes de cebada cervecera con diferente nivel de pre-germinado: bajo (1), medio (2) y alto (3). Nótese el cambio en el parámetro K_i (ordenada al origen de la relación); b) un lote de cebada cervecera bajo diferentes condiciones de almacenamiento: estándar (1), o con mayor (2) o menor (3) temperatura y/o humedad de los granos. Adaptado de Del Fueyo *et al.* (1999).

El pre-germinado y el BPC disminuyen la longevidad potencial (K_i) y la almacenabilidad de un lote de semillas (Fig. 1.4a). Estos efectos fueron encontrados en cebada cervecera (Bason *et al.* 1993; Del Fueyo *et al.* 1999), sorgo granífero (Benech-Arnold y Sánchez 2003; Del Fueyo *et al.* 2003) y trigo (Stahl y Steiner 1998). La estimación de la K_i a partir de métodos rutinarios y más sencillos haría posible el uso de la Ecuación de Viabilidad a escala industrial para el manejo pos-cosecha de lotes afectados por estas adversidades. En cebada cervecera, Del Fueyo *et al.* (1999) realizaron avances en este sentido (ver más abajo). Esta tesis profundiza y amplía dichos conocimientos en pos de un mejor manejo pos-cosecha de los granos en las malterías.

1.7. Dormición en cereales: control genético y ambiental

La imposición de la dormición en granos de cereales ocurre temprano en el desarrollo (Benech-Arnold 2004). Generalmente, los embriones son totalmente capaces de germinar a partir de las primeras etapas de su desarrollo [i.e., 15-20 DPA (días post-antesis)] si son aislados del grano entero e incubados en agua. Sin embargo, el grano entero alcanza esta capacidad bastante tiempo después. Esta dormición impuesta por las cubiertas (endosperma + pericarpio + glumelas y/o glumas) constituye la barrera que impide la germinación prematura y su duración depende del genotipo y del ambiente explorado durante el desarrollo y la pos-maduración de las semillas (Benech-Arnold y Sánchez 2003; Benech-Arnold 2004). Entonces, aunque se han reportado casos de dormición embrionaria en cebada y otros cereales, los cultivares susceptibles a brotado estarían representados por aquellos cuya dormición impuesta por las cubiertas finaliza en forma anticipada, algún tiempo antes de madurez de cosecha. Aún así, un alto nivel de dormición previo a la cosecha no elimina totalmente la posibilidad de que ocurran eventos de BPC si prevalecen condiciones de alta humedad ambiental alrededor de ese momento. Con excepción de aquellas semillas que presentan dormición absoluta y en consecuencia no germinan bajo ninguna condición térmica, es una característica bastante común que la dormición sea expresada a ciertas temperaturas y no a otras (dormición relativa) (Bewley y Black 1994). En este último caso, el rango térmico bajo el cual germinan las semillas se estrecha o se amplía según el nivel de dormición sea alto o bajo, respectivamente. Los granos dormidos de cereales presentan dormición relativa: en cereales de verano, como el sorgo granífero, la dormición no se expresa a altas temperaturas (i.e., 30°C), mientras que en cereales de invierno como trigo y cebada la misma no se expresa a bajas temperaturas (i.e., 10°C o menos) (Benech-Arnold 2004). Esta falta de expresión de la dormición en los granos de cereales de invierno hace que en años en los que se combinan condiciones húmedas con bajas temperaturas alrededor de la cosecha se prevea un alto riesgo de brotado tanto en cultivares resistentes (alta dormición) como en aquellos susceptibles (baja dormición) a BPC.

La susceptibilidad a BPC se encuentra determinada principalmente por el genotipo (Benech-Arnold 2001). Existe una amplia variabilidad entre especies vegetales y entre cultivares dentro de una misma especie en el comportamiento frente a esta adversidad. Las variedades de trigo rojo son más resistentes a BPC que las de trigo

blanco. En sorgo granífero, un alto contenido de taninos en el grano se relaciona con una baja susceptibilidad a BPC, aunque también con una peor calidad. Las variedades de arroz Japonica sufren brotado más fácilmente que las del tipo Indica.

Además del efecto directo que tiene sobre el nivel de dormición de las semillas, el genotipo también tiene influencia sobre la tasa de absorción de humedad por las simientes. Esta tasa es afectada por la morfología de la inflorescencia, las características de las cubiertas seminales, la turgencia del embrión, y las propiedades químicas de los cariopses (King 1989). Al no tener cubiertas impermeables como las leguminosas, la tasa de absorción de agua de los granos de cereales aún adheridos a la planta madre puede ser una característica decisiva en la determinación del comportamiento del cultivo frente al brotado pre-cosecha. La tasa de imbibición de las semillas puede diferir sustancialmente entre variedades de una misma especie. En algunas especies de cereales, el contenido de humedad crítico para germinación es alcanzado en aproximadamente 3 horas en agua libre. King (1989) revisó los factores que influyen en la imbibición de granos de trigo y otros cereales. La tasa de imbibición es incrementada por estructuras como las aristas en trigo (King y Richards 1984), y es afectada por la cerosidad, pubescencia y el ángulo de la inflorescencia en cebada (King y Liciis 1990; King y von Wettstein-Knowles 2000). Factores tales como la dureza del grano, su color, el grosor de la testa y otros tejidos, el tamaño y la relación superficie/volumen fueron evaluados en algunos estudios (King 1989). La tasa de secado de la espiga y del grano después de un evento de lluvia posiblemente también afecte al brotado, pero aparentemente la misma está determinada sólo por la evaporación y no difiere entre cultivares. La temperatura afecta la tasa de imbibición a través de su efecto sobre la viscosidad del agua y probablemente también sobre la permeabilidad de los tejidos (Vertucci y Leopold 1986), influenciando también la tasa de secado por evaporación.

Además del genotipo, el ambiente experimentado por la planta madre también puede modular la velocidad con que las semillas salen de la dormición (Hilhorst 1995; Baskin y Baskin 1998; Benech-Arnold 2004; Bewley *et al.* 2006; Allen *et al.* 2007; Ceccato *et al.* 2011) y, entonces, la susceptibilidad a BPC de un cultivo. Estos efectos ambientales se han verificado para un amplio rango de especies, tanto silvestres como cultivadas (Fenner 1991). La temperatura del aire durante el desarrollo de las semillas aparece como uno de los principales factores que regulan la velocidad de salida de la dormición de las simientes. En avena se encontró que las altas temperaturas durante el desarrollo seminal generan un menor nivel de dormición (Sexsmith 1969). Posteriormente dicho efecto fue confirmado por numerosos estudios en esta (Richardson 1979; Sawhney y Naylor 1980; Somody *et al.* 1984) y otras especies (Wiesner y Grabe 1972; Reiner y Loch 1976; Wurzbürger y Koller 1976; Mohamed *et al.* 1985; Sharif-Zadeh y Murdoch 2000; Rodríguez *et al.* 2001; Biddulph *et al.* 2007).

La longitud del día (fotoperíodo) durante el desarrollo de la semilla es el aspecto más importante del ambiente lumínico experimentado por la planta madre que influye sobre la dormición. En la mayoría de los casos los días cortos se relacionan con un bajo nivel de dormición. Esto sucede en especies de gramíneas (Wurzbürger y Koller 1976; Sharif-Zadeh y Murdoch 2000), en quinoa (*Chenopodium quinoa*) (Ceccato *et al.* 2011), en hortícolas como remolacha (*Beta vulgaris* var. *Rubra*) (Heide *et al.* 1976) y lechuga

(*Lactuca sativa* L.) (Guttermann 1973), y en las malezas verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) (Guttermann 1974) y yuyo colorado (*Amaranthus retroflexus* L.) (Kigel *et al.* 1977, 1979). Sin embargo, el efecto opuesto se ha encontrado en *Avena fatua* (Richardson 1979; Somody *et al.* 1984) y cebada cervecera (Schuurink *et al.* 1992).

También, la calidad (longitud de onda) de la luz recibida durante el desarrollo seminal puede ser un determinante de los requerimientos de luz para germinar de la semilla madura. Trabajando con *Arabidopsis thaliana*, McCullough y Shropshire (1970) encontraron que la habilidad para germinar en la oscuridad era mucho mayor en semillas que maduraron bajo luz con alta relación rojo/rojo lejano.

El efecto de la sequía durante el desarrollo de las semillas sobre la dinámica de salida de la dormición depende del mecanismo de imposición de la misma. En aquellas especies en las cuales la dormición se encuentra impuesta mecánicamente por el grosor y/o dureza de las cubiertas seminales (i.e., dormición física) la sequía aumenta la dormición, ya que se incrementa el espesor y disminuye la permeabilidad de los tejidos que rodean a la semilla (Hill *et al.* 1986). Cuando la dormición está impuesta a través de mecanismos bioquímicos (i.e., dormición fisiológica), la sequía generalmente tiene el efecto de disminuir el nivel de dormición (Peters 1982; Sawhney y Naylor 1982; Benech-Arnold *et al.* 1992). Benech-Arnold y colaboradores (1991) hallaron que el estrés hídrico durante el desarrollo de semillas de sorgo granífero reduce 10 veces la sensibilidad al ácido abscísico (ABA) de los embriones, y entonces el nivel de dormición de los granos. Sin embargo, algunos estudios en otras gramíneas indican que la sequía durante el llenado de granos incrementa la dormición de los mismos (Aspinall 1965; Sharif-Zadeh y Murdoch 2000; Biddulph *et al.* 2007).

El nivel de nutrientes al que estuvo sometida la planta madre también puede afectar el nivel de dormición. Altos niveles de N promueven la salida de la dormición en tomate (*Lycopersicum esculentum* L.) (Varis y George 1985), tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) (Thomas y Raper 1979), festuca alta (*Festuca arundinacea* L.) (Watson y Watson 1982) y en quinoa blanca (*Chenopodium album* L.) (Fawcett y Slife 1978). En sorgo granífero, Benech-Arnold *et al.* (1995) hallaron que la deficiencia de potasio durante el ciclo disminuye el nivel de dormición de los granos a madurez.

Cuando se considera un amplio rango de especies vegetales emergen ciertos patrones comunes del efecto del ambiente materno sobre el nivel de dormición de las semillas. Un bajo nivel de dormición, i.e. alta germinabilidad, se encuentra generalmente asociado con altas temperaturas, días cortos, altas relaciones rojo/rojo lejano, sequía, y altos niveles de N en el suelo durante el desarrollo de las semillas (Walker-Simmons y Sesing 1990; Fenner 1991; Benech-Arnold *et al.* 1991, 1992; Gate 1995).

1.8. Brotado pre-cosecha y pre-germinado en cebada cervecera

El destino de los granos de cebada cervecera es casi exclusivamente el malteado, para la posterior producción de cerveza y otros derivados. En Argentina la producción de este cereal se destina íntegramente a esta actividad. Como se dijera anteriormente, este uso industrial requiere de la germinación de los granos de cebada. Junto con el contenido de proteína en grano y el calibre, la capacidad germinativa de los granos es uno de los factores más importantes que hacen a la calidad de un lote de cebada cervecera (Brookes 1980; SAGPyA 2000). Por lo tanto, mantener una alta viabilidad del lote de granos por el mayor tiempo posible es uno de los principales objetivos perseguidos por la industria maltera en relación al almacenamiento de su materia prima. En este sentido, el brotado pre-cosecha y el pre-germinado de los granos son fenómenos que obstaculizan la consecución de este objetivo. Entonces, el desarrollo de herramientas que permitan disminuir la incidencia y las consecuencias negativas de estas adversidades se hace imprescindible, y es abordado en esta tesis doctoral.

Como en la mayoría de los cereales, en cebada cervecera la dormición está impuesta por las cubiertas, aunque el grano de cebada presenta características particulares. El grano de cebada es un grano “vestido”, las glumelas que se encuentran adheridas al cariopse representan una limitante adicional para la germinación del embrión a la ya impuesta por el resto de las cubiertas (endosperma y pericarpio), como sucede en el común de los cereales, los que presentan granos “desnudos” (Corbineau y Côme 1980; Benech-Arnold *et al.* 1999). La imposición de la dormición en los granos de cebada ocurre temprano en el desarrollo (Benech-Arnold 2001). Los embriones de cebada generalmente son capaces de germinar a partir de etapas tempranas del desarrollo [i.e., 15-20 días post-antesis (DPA)] si son aislados del grano entero e incubados en agua (Benech-Arnold *et al.* 1999). Sin embargo, el grano entero alcanza esta capacidad bastante tiempo después. Esta dormición impuesta por las cubiertas constituye la barrera que impide la germinación prematura (Corbineau y Côme 1980; Lenoir *et al.* 1986). Raramente los granos de cebada comienzan a salir de la dormición antes de que el cultivo alcance el estado de madurez fisiológica (MF). Existe variabilidad genotípica en el patrón de salida de la dormición de los cultivos de cebada: algunos cultivares salen rápidamente de la dormición (i.e., en días), otros más gradualmente (i.e., en semanas) y otros permanecen dormidos por muchos meses (Benech-Arnold 2001).

Como en otros cereales, la susceptibilidad a BPC en cebada cervecera está dada por la salida anticipada de la dormición de los granos antes de la cosecha (Steinbach *et al.* 1995). Si existe un bajo nivel de dormición en el período de secado de los granos a campo (i.e., madurez fisiológica-madurez de cosecha), una breve exposición a condiciones de alta humedad ambiental (i.e., <24 h) y bajas temperaturas puede derivar en episodios de BPC y pre-germinado. Como se dijo en secciones anteriores, el BPC provoca la pérdida inmediata de la viabilidad del grano, inutilizándolo desde el punto de vista industrial; mientras que el pre-germinado disminuye la longevidad potencial del lote de semillas, reduciendo su almacenabilidad (Benech-Arnold 2001). Además, se afecta la calidad del proceso y del producto elaborado: se favorece el crecimiento de

mohos, disminuye el rendimiento del extracto de malta, se reduce la estabilidad y aparecen sabores desagradables en la cerveza (Schildbach 1987; Pitz 1990; Sole 1994). La industria maltera tiene una baja tolerancia a la pérdida de calidad causada por BPC o pre-germinado; muchas veces los lotes son rebajados de precio o incluso rechazados. En Argentina, las normas de comercialización de cebada cervecera seleccionada para maltería establecen una base mínima de 98% de capacidad germinativa, siendo de 95% la tolerancia de recibo, sujeta a castigos en el precio del cereal (SAGPyA 2000).

Las bases fisiológicas, genéticas y ambientales de la susceptibilidad a BPC en cebada han sido objeto de intensas investigaciones en las últimas tres décadas (para revisiones ver Auranen 1995; Benech-Arnold 2001).

El nivel de dormición de los granos de cebada durante la maduración depende fundamentalmente del genotipo. Como resultado de la velocidad de salida de la dormición después de MF, podemos encontrar variedades de cebada altamente resistentes a BPC (i.e., baja velocidad), con un comportamiento intermedio (i.e., velocidad media) y otras altamente susceptibles (i.e., alta velocidad). Las malterías consideran ventajoso un bajo nivel de dormición de los granos a cosecha (i.e., cultivares con alta velocidad de salida de la dormición), ello les permite maltear el grano inmediatamente (Benech-Arnold 2001). Sin embargo, el uso de estos cultivares aumenta el riesgo a sufrir BPC. Ajustar la salida de la dormición de los granos a los requerimientos de las malterías, ubicándola en una precisa y estrecha ventana de tiempo, constituye una tarea muy difícil. El genotipo ideal sería aquel cuya ventana de salida de la dormición se encuentre ubicada inmediatamente después de madurez de cosecha (i.e., no tan temprano como para sufrir daños por brotado, ni tan tarde como para tener que almacenar el grano hasta que éste pierda su dormición) (Fig. 1.3).

Como en otras especies, en cebada cervecera las condiciones ambientales experimentadas por la planta madre también modulan la dinámica de la salida de la dormición de los granos (Aspinall 1965; Kahn y Laude 1969; Nicholls 1982; Schuurink *et al.* 1992, Cochrane 1993; Auranen 1995; Benech-Arnold 2001; Rodríguez *et al.* 2001). En los cultivares con una alta velocidad de salida de la dormición luego de MF y en aquellos con dormición persistente los factores ambientales pueden tener escaso o nulo efecto sobre su comportamiento frente a BPC; los primeros siempre serán susceptibles a BPC, mientras que los últimos siempre serán resistentes (Benech-Arnold 2001). Sin embargo, los cultivares con una velocidad de salida de la dormición intermedia se pueden comportar como resistentes a BPC en algunos años o como susceptibles en otros según sean las condiciones ambientales durante el desarrollo de las semillas (Benech-Arnold 2001). Esta variabilidad entre años obedece al efecto de diferentes factores ambientales. Entre ellos, la temperatura del aire aparece como uno de los factores más importantes que regulan la dormición del grano de cebada. Varios trabajos muestran relaciones entre la temperatura experimentada por la planta madre y el nivel de dormición de los granos (Kivi 1966; Reiner y Loch 1976; Nicholls 1982; Buraas y Skinnes 1985; Cochrane 1993; Rodríguez *et al.* 2001). La evidencia disponible sugiere que la temperatura es crítica sólo en una ventana de sensibilidad dentro del período de llenado de granos (Reiner y Loch 1976; Buraas y Skinnes 1985; Rodríguez *et al.* 2001). En 1976, Reiner y Loch encontraron que la combinación de bajas

temperaturas durante la primera mitad del llenado con altas temperaturas durante la segunda mitad estaba asociada con un bajo nivel de dormición de los granos de cebada cervecera. Estos autores establecieron una relación lineal entre el cociente de las temperaturas prevalecientes en ambas mitades del llenado de granos y el nivel de dormición presentado por los granos 3 semanas después de la cosecha. Este modelo fue utilizado por la industria maltera alemana para predecir el nivel de dormición de lotes de cebada después de la cosecha.

En 2001, Rodríguez *et al.* trabajando con el cv. de cebada cervecera Quilmes Palomar encontraron una estrecha relación entre la temperatura media del aire imperante en una ventana acotada del llenado y el nivel de dormición de los granos presente a mitad de camino entre MF y madurez de cosecha. En este trabajo, la regresión lineal entre la temperatura media en la ventana del llenado comprendida entre los 300-350 °Cd desde anthesis ($T_{m300-350}$) y el índice de germinación medido 12 días después de MF (IG_{12DDMF}) arrojó un elevado valor de ajuste ($r^2=0,95$) (Fig. 1.5). Es decir, a mayor temperatura durante la ventana de sensibilidad térmica, mayor será la velocidad con la cual los granos saldrán de la dormición luego de MF y, en consecuencia, menor será el nivel de dormición previo a la cosecha (i.e., mayor susceptibilidad a BPC).

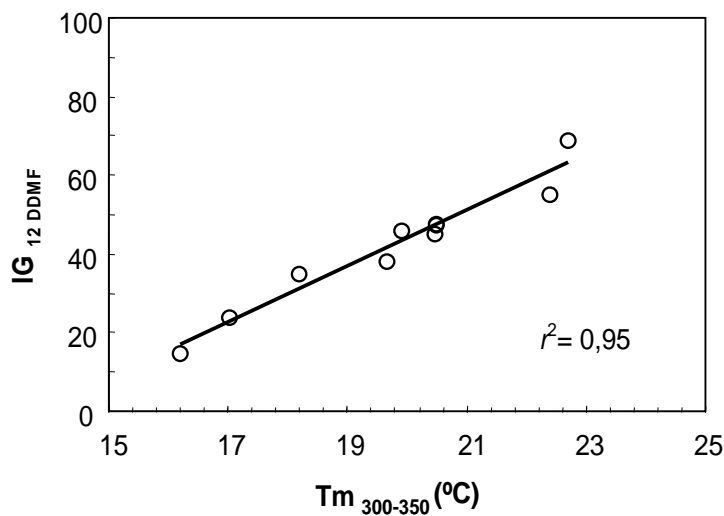


Figura 1.5. Relación entre la temperatura media del aire experimentada por el cultivo de cebada (cv. Quilmes Palomar) durante la ventana de sensibilidad térmica comprendida en el intervalo de 300-350 °Cd desde floración ($T_{m300-350}$), y el índice de germinación de granos cosechados 12 días después de madurez fisiológica (IG_{12DDMF}) e incubados a 20°C. Adaptado de Rodríguez *et al.* (2001).

Estos resultados hicieron posible el desarrollo de un modelo que permite predecir la susceptibilidad de un cultivo de cebada (cv. Q. Palomar) a sufrir daños por BPC a partir de datos de fácil obtención (i.e., fecha de floración y temperatura media diaria durante el período de llenado de granos). La predicción generada por el modelo junto con el

pronóstico meteorológico de lluvias para el período previo cercano a la cosecha permite estimar el riego de brotado al cual se verá expuesto el cultivo y tomar decisiones de manejo en consecuencia (e.gr., anticipar la cosecha si el riesgo es alto). Estos hallazgos significaron una contribución importante hacia el logro de un más adecuado manejo pre-cosecha del brotado y del pre-germinado en cultivos de cebada.

Sin embargo, cuando este modelo fue validado contra datos independientes de campo la relación entre el IG_{12DDMF} y la $Tm_{300-350}$ conservó su valor de pendiente, pero la misma se vio desplazada hacia abajo (i.e., menor ordenada al origen), sugiriendo que el factor temperatura explica sólo una dimensión de la variabilidad observada en dormición (el modelo subestimaba el nivel de dormición de los granos, y entonces sobreestimaba la susceptibilidad a BPC del cultivo) (Fig. 1.6). Estos resultados sugieren la acción durante el llenado de, además de la temperatura, otros factores ambientales (i.e., disponibilidad hídrica y nutricional, fotoperíodo, etc.) que influyen en la determinación de la tasa de salida de la dormición de un cultivo de cebada. En efecto, las condiciones ambientales tales como las características del suelo y la disponibilidad de agua fueron diferentes entre el sitio experimental (i.e., donde fue desarrollado el modelo) y las localidades de validación. Por ejemplo, las parcelas experimentales y las de validación fueron conducidas bajo riego y en secano, respectivamente, lo cual pudo haber causado que la disponibilidad hídrica y de nitrógeno para el cultivo sean menores en los sitios de validación. Contrariamente a los trabajos en varias especies que asocian el estrés hídrico durante el desarrollo de las semillas con un menor nivel de dormición (Sawhney y Naylor 1982; Benech-Arnold *et al.* 1991), Aspinall (1965) encontró que la sequía impuesta durante el período de llenado aumentaba el nivel de dormición de granos de cebada. Biddulph *et al.* (2005, 2007) encontraron resultados parecidos en trigo. Estos hallazgos podrían explicar la sobreestimación de la susceptibilidad a BPC a partir del modelo desarrollado por Rodríguez *et al.* (2001). En dicho trabajo, las parcelas de validación pudieron haber sufrido estrés hídrico durante el llenado de granos, lo que originó un nivel de dormición mayor que el esperado. Otro factor que explicaría el desplazamiento de la relación entre el nivel de dormición y la temperatura podría ser la disponibilidad de nitrógeno del suelo. En varias especies se ha encontrado que los altos niveles de nitratos en el suelo promueven la salida de la dormición (Fawcett y Slife 1978; Thomas y Raper 1979; Watson y Watson 1982; Varis y George 1985). Entonces, la menor disponibilidad de este nutriente en el suelo de las parcelas de validación induciría un alto nivel de dormición en los granos, mayor que el esperado según el modelo.

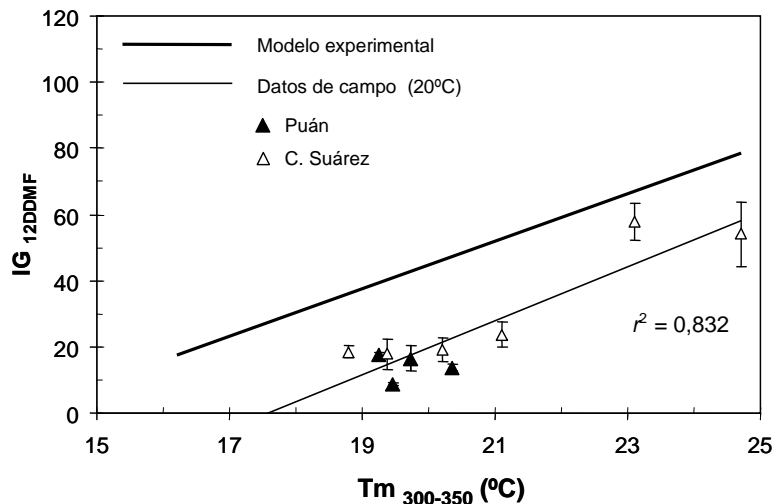


Figura 1.6. Validación del modelo de predicción de la susceptibilidad a BPC. Relación entre la temperatura media explorada por el cultivo en el intervalo 300-350°Cd desde floración ($T_{m300-350}$) y el índice de germinación observado en granos cosechados 12 días después de madurez fisiológica (IG_{12DDMF}) en dos localidades de la provincia de Buenos Aires (datos de campo). La línea gruesa indica el modelo experimental. Adaptado de Rodríguez *et al.* (2001).

La presente tesis estudia los efectos que tienen otros factores del ambiente durante el llenado de granos sobre la dinámica de salida de la dormición de un cultivo de cebada, con el fin de incorporar los mismos a los modelos predictivos de la susceptibilidad a BPC y mejorar el funcionamiento y la precisión de estas herramientas de manejo. A partir de estos nuevos conocimientos, y junto con la expansión de modelos similares hacia otros cultivares comerciales de cebada de uso actual, se busca generar sistemas de alarma de sencilla aplicación que permitan a los productores de cebada estimar la susceptibilidad de sus cultivos a sufrir daños por brotado/pre-germinado y, en caso de que ésta sea alta y exista una elevada probabilidad de lluvias previas a la cosecha, adoptar medidas de manejo tendientes a disminuir la incidencia de esta adversidad (i.e., cosecha anticipada).

Como se dijo anteriormente, el mantenimiento de un alto nivel de viabilidad de los lotes de cebada cervecera durante el período de almacenamiento resulta fundamental para alcanzar una alta eficiencia del proceso productivo, constituyéndose éste en uno de los principales desafíos de la industria maltera. En este sentido, se busca: 1) que los lotes de cebada presenten un alto valor de viabilidad al recibo de los mismos (i.e., alta viabilidad inicial); y 2) que esta viabilidad se mantenga en niveles aceptables (idealmente mayor al 95%) hasta que el lote sea industrializado. Lo primero se consigue recibiendo sólo lotes con una muy baja/nula incidencia de brotado; mientras que lo segundo se logra a través de la recepción de lotes con un bajo nivel de pre-germinado y reduciendo la tasa de deterioro fisiológico de los granos a partir de la optimización de las condiciones de almacenamiento (i.e., temperatura y humedad de los granos) (Sorlino y Benech-Arnold 2003).

Como en otras especies vegetales, en cebada cervecera la evolución de la viabilidad de un lote de granos durante el almacenamiento se halla descripta por la Ecuación de Viabilidad desarrollada por Ellis y Roberts (1980a; 1981; Ec. 1.1). Cuanto menores son la humedad del grano y la temperatura durante el almacenamiento mayor es la longevidad de las semillas (i.e., menor es la tasa de pérdida de viabilidad durante el almacenamiento) (Harrington 1972). Cabe aclarar que con el diseño de las condiciones de almacenamiento la industria maltera busca maximizar su beneficio económico, y por lo tanto dichas condiciones serán ajustadas en función de este objetivo. Existe un compromiso entre el costo económico (tecnológico, en infraestructura y energético) que implica mejorar el ambiente durante el almacenamiento (i.e., menor temperatura y contenido de humedad de los granos) y el beneficio económico derivado de esta mejora (i.e., aumento de la longevidad de los granos). Es decir, las condiciones de almacenamiento serán ajustadas de manera tal que permitan obtener un valor óptimo de tasa de pérdida de viabilidad.

En la Ecuación de Viabilidad todos los parámetros/constantes son medianamente fáciles de medir o conocer, excepto la longevidad potencial o constante de lote (K_i). Este parámetro es propio de cada lote y su determinación no es sencilla, requiriendo cierto tiempo y trabajo de laboratorio (Ellis y Roberts 1980a). Ello dificulta la adopción y aplicación de la Ecuación de Viabilidad por parte de la industria maltera para el manejo pos-cosecha de los granos (Del Fueyo *et al.* 1999).

Dado que existe una asociación negativa entre el nivel de pre-germinado y la longevidad potencial de un lote de granos (Bason *et al.* 1993; Stahl y Steiner 1998; Del Fueyo *et al.* 2003), Del Fueyo *et al.* (1999) exploraron relaciones entre indicadores de calidad de lotes de cebada (FN, Carlsberg y Actividad Alfa-Amilasa) y la K_i de los mismos, para los cultivares Quilmes Palomar y B1215. Encontraron correlaciones significativas entre todos estos indicadores y la K_i , pero sólo en Q. Palomar. Esta variedad tiene un comportamiento intermedio frente al BPC, mientras que B1215 es altamente susceptible. Sin embargo, el FN no sólo fue el método que mejor asociación (mayor r^2) presentó con la longevidad potencial de los lotes, sino que además sus valores se relacionaron linealmente con la K_i (Fig. 1.7). Aunque a la fecha este modelo aún no ha sido validado, la estimación de la K_i a partir de análisis de calidad rutinariamente realizados por la industria maltera al recibo de los granos (Pitz 1990) haría posible la utilización de la Ecuación de Viabilidad para el manejo pos-cosecha de los granos a escala industrial. Estos aspectos son estudiados en la presente tesis. De esta manera, el poder predecir la evolución de la viabilidad de un lote de cebada durante su almacenamiento comercial permitiría ajustar las condiciones de almacenaje en función del nivel de daño por pre-germinado y de los requerimientos de la industria y, a su vez, asignar prioridades de malteado entre lotes con diferente nivel de daño. Así, si bien el brotado ocasiona la pérdida inmediata de la viabilidad y por lo tanto los daños provocados por esta adversidad son irreversibles, se podrían reducir las consecuencias negativas del pre-germinado, y también del brotado, sobre la viabilidad de los granos a lo largo del almacenaje.

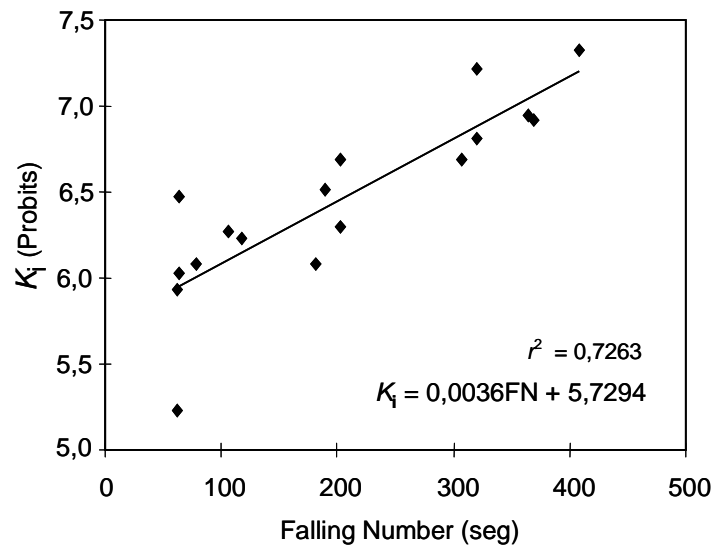


Figura 1.7. Relación entre la longevidad potencial (K_i) de lotes de cebada cervecera cv. Quilmes Palomar y sus valores de Falling Number. Adaptado de Del Fueyo *et al.* (1999).

OBJETIVOS

Objetivo general

Generar y ampliar el conocimiento científico acerca del efecto del ambiente sobre la dinámica de salida de la dormición en cultivos de cebada cervecera (*Hordeum vulgare* L.), con el fin de desarrollar herramientas tecnológicas que permitan disminuir la incidencia (manejo pre-cosecha) y reducir las consecuencias durante el almacenamiento (manejo pos-cosecha) del brotado y pre-germinado previos a la cosecha en cultivos de esta especie.

Objetivos particulares

- 1) Estudiar el efecto que tienen los principales factores ambientales (i.e., temperatura, disponibilidad hídrica y de N del suelo, fotoperíodo) durante el período de llenado de granos sobre la dinámica de salida de la dormición en cultivos de cebada cervecera.
- 2) En relación al manejo pre-cosecha del BPC: Elaborar un sistema de alarma de sencilla aplicación que permita predecir, a partir de las condiciones ambientales (i.e., temperatura, disponibilidad hídrica y de N del suelo, fotoperíodo) experimentadas durante el llenado de los granos, la susceptibilidad de un cultivo de cebada cervecera a sufrir daños por brotado o pre-germinado en momentos previos a la cosecha, para los principales cultivares comerciales de uso actual en Argentina.
- 3) Estudiar el efecto del pre-germinado a campo de los granos sobre la viabilidad inicial, la longevidad potencial y la almacenabilidad de lotes de cebada cervecera.
- 4) En relación al manejo pos-cosecha del BPC: Desarrollar y validar modelos cuantitativos que permitan predecir la viabilidad de un lote de granos de cebada cervecera durante el almacenamiento industrial, para los principales cultivares comerciales de uso actual en Argentina.

HIPÓTESIS

Hipótesis 1: La temperatura del aire, la disponibilidad hídrica y de N del suelo y el fotoperíodo durante el llenado de granos determinan la susceptibilidad a BPC del cultivo de cebada cervecera en variedades con resistencia intermedia a esta adversidad.

Hipótesis 2: El pre-germinado a campo de los granos de cebada cervecera no tiene efectos inmediatos sobre la viabilidad del lote al inicio del almacenamiento, pero sí reduce la longevidad potencial y la almacenabilidad del mismo.

Hipótesis 3: En el cultivo de cebada cervecera el parámetro de calidad “Falling Number” es un integrador de las condiciones de maduración experimentadas por los granos a campo y por lo tanto constituye un buen estimador de la longevidad potencial de un lote de granos, existiendo una alta correlación entre ambos parámetros para cada uno de los principales cultivares comerciales de uso actual en Argentina.

CAPÍTULO 2

PREDICCIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD A BROTADO PRE-COSECHA A PARTIR DE LA TEMPERATURA DURANTE EL LLENADO DE GRANOS EN CULTIVOS DE CEBADA CERVECERA

*Publicado en: **Gualano NA**, Benech-Arnold RL. 2009. Predicting pre-harvest sprouting susceptibility in barley: Looking for “sensitivity windows” to temperature throughout grain filling in various commercial cultivars. Field Crops Research 114:35-44.

2.1. Introducción

Los granos de cebada cervecera (*Hordeum vulgare* L.) deben conservar su capacidad germinativa hasta el momento de ser industrializados (malteado) para poder elaborar la malta (SAGyP 1994). El brotado pre-cosecha (BPC) y el pre-germinado reducen la capacidad germinativa de los lotes de cebada, afectando negativamente la eficiencia y calidad del proceso de malteado. La susceptibilidad a estas adversidades depende fundamentalmente de la dinámica de salida de la dormición que presente el cultivo de cebada. Este patrón se encuentra determinado principalmente por factores genotípicos. Existen variedades de cebada altamente susceptibles a BPC (alta tasa de pérdida de la dormición), y otras muy resistentes (baja tasa de pérdida de la dormición). Si bien se realizaron varios intentos a través del mejoramiento genético, resulta muy difícil ajustar la salida de la dormición a una precisa y estrecha “ventana” de tiempo de manera tal de satisfacer los requerimientos de la industria maltera (i.e., no tan temprano como para sufrir daños por brotado, ni tan tarde como para tener que almacenar el grano hasta que éste pierda su dormición). En la actualidad, la mayoría de los cultivares comerciales de cebada cervecera presenta una susceptibilidad intermedia a BPC (tasa de salida de la dormición media) (Romagosa *et al.* 1999), comportándose como susceptibles en algunos años y como resistentes en otros. Esta variabilidad entre años obedece a un efecto del ambiente sobre la tasa de salida de la dormición. En muchas especies vegetales se ha encontrado que el ambiente experimentado por la planta madre modula la velocidad con que las semillas pierden la dormición (Fenner 1991). En cebada, la temperatura del aire durante el desarrollo de las semillas aparece como uno de los principales factores que regulan la velocidad de salida de la dormición de los granos (Kivi 1966; Reiner y Loch 1976; Nicholls 1982; Buraas y Skinnes 1985; Cochrane 1993; Rodríguez *et al.* 2001). En vistas de que, bajo el estado del arte actual, es sumamente difícil alcanzar el ideotipo de cebada con respecto a BPC, se plantearon nuevos abordajes de la problemática.

En la década del '60, Belderok (1965, 1968) realizó numerosas investigaciones con varios cultivares de trigo, explorando cómo cambiaba el nivel de dormición al modificar la temperatura durante el llenado de granos en invernaderos. Este autor encontró una relación negativa entre la duración de la dormición de los granos y la suma térmica sobre una base de 12,5°C en la etapa de grano pastoso, última fase de desarrollo del grano. Sobre la base de estos conocimientos se desarrolló un sistema de alarma que fue utilizado en los Países Bajos para predecir, a partir de las condiciones térmicas imperantes durante el llenado de granos, la susceptibilidad a BPC de cada una de las principales variedades de trigo cultivadas en esa región (Belderok 1968). De esta forma se informaba a los productores sobre el nivel de riesgo de brotado existente, y si éste era alto se aconsejaba a los mismos: a) cosechar el cultivo tan rápido como sea posible, una vez alcanzado cierto estado de madurez; b) cosechar en primer lugar las variedades más susceptibles a BPC; c) prepararse para afrontar mayores costos de secado, producto del adelantamiento de la cosecha.

En la región de Schleswig-Holstein (uno de los estados de Alemania) a partir de 1967 y durante algunos años funcionó un sistema de alerta de brotado similar al

anteriormente descrito a cargo del organismo gubernamental de asuntos agrícolas (Landwirtschaftskammer) (Brandenburger 1967, 1968).

Basándose en las investigaciones de Belderok, Reiner y Loch (1976) encontraron en cebada dos períodos de sensibilidad a la temperatura durante el llenado de granos relacionados con el nivel de dormición (12-16 y 30-41 días desde la emergencia de la espiga). Con más de 17 años de experimentación, estos autores hallaron que la combinación de bajas temperaturas durante el primer período con altas temperaturas durante el segundo estaba asociada con un bajo nivel de dormición de los granos de cebada cervecera. En este trabajo se estableció una relación lineal entre el cociente de las temperaturas prevalecientes en ambos períodos del llenado y el nivel de dormición presentado por los granos 3 semanas después de la cosecha. A partir de este modelo el gobierno de la ex República Federal Alemana publicaba cada año, inmediatamente después de la cosecha, un reporte sobre la duración esperada de la dormición en los principales cultivares de cebada utilizados en Alemania (Reiner y Fischbeck 1965; Reiner 1966; Fischbeck y Reiner 1967). De esta manera, la industria maltera alemana podía conocer con cierta aproximación la fecha más temprana a partir de la cual sus lotes de cebada se encontrarían listos para ser malteados.

Sin embargo, aunque significó un aporte interesante, es dable realizar algunos comentarios sobre la aplicación de este modelo (Rodríguez *et al.* 2001). En primer término, la finalidad del mismo es advertir a los malteros sobre la presencia de lotes excesivamente dormidos, y no alertar a los productores de cebada sobre la existencia de una alta susceptibilidad a BPC en sus cultivos. De hecho, el modelo predice el nivel de dormición 3 semanas después de la cosecha, y no cuando los granos se encuentran aún en el campo. En segundo lugar, la ventana de sensibilidad a la temperatura no se encuentra definida en unidades de tiempo térmico, por lo que está sujeta a desplazamientos dentro del período de llenado entre diferentes años o localidades. Por último, el modelo no ha sido validado contra datos de campo independientes.

En los últimos años se desarrollaron herramientas tecnológicas similares para manejar la susceptibilidad a BPC en cultivos de cebada argentinos. En 2001, Rodríguez *et al.* desarrollaron un modelo que permitía predecir la susceptibilidad a BPC de un cultivo de cebada (cv. Quilmes Palomar) a partir de datos de fácil obtención (i.e., fecha de anthesis y temperatura media diaria durante el llenado de granos) (ver Capítulo 1). Esta predicción, junto con el pronóstico meteorológico de lluvias para el período cercano a la cosecha, posibilitaría la estimación del riesgo a sufrir BPC y, si éste es alto, tomar la decisión de cosechar anticipadamente (Mares 1984; Paulsen y Auld 2004).

Con el objetivo de generalizar este modelo predictivo se hace necesario explorar la existencia de ventanas de sensibilidad similares en un amplio rango de cultivares de cebada. El caso de que estas ventanas poseyeran una ubicación relativa similar dentro del período de llenado de granos en todos los cultivares analizados, estaría evidenciando la posibilidad de que en ese momento ocurran eventos fisiológicos importantes que deciden la dinámica de salida de la dormición del cultivo.

En este Capítulo se abordaron parcialmente los objetivos particulares 1 y 2 enunciados en la Introducción General de esta tesis. El primero de ellos planteaba estudiar el efecto del ambiente durante el período de llenado de granos sobre la

dinámica de salida de la dormición en cultivos de cebada cervecera. Específicamente, en este Capítulo se exploraron los efectos del ambiente térmico durante este período (i.e., varias fechas de siembra en tres años experimentales diferentes) sobre la dinámica de salida de la dormición en un amplio rango de variedades de cebada cervecera comúnmente cultivadas en Argentina. Ya que la metodología empleada para alcanzar este objetivo consistió en someter a la fase de llenado a diferentes ambientes térmicos a partir de siembras escalonadas, también se exploró el efecto del ambiente fotoperiódico durante el llenado sobre la dormición en los dos cultivares más importantes. En efecto, las siembras escalonadas modifican el ambiente térmico explorado por el cultivo, pero también el ambiente fotoperiódico.

A partir de los resultados obtenidos se abordó parcialmente el objetivo particular 2, el cual planteaba desarrollar un sistema de alarma que permita predecir la susceptibilidad a BPC de un cultivo de cebada en función del ambiente experimentado durante el llenado de granos. Los modelos predictivos generados fueron validados con datos independientes de campo obtenidos en parcelas experimentales comerciales.

2.2. Materiales y Métodos

2.2.1. Materiales y Métodos. Generalidades comunes a todos los Capítulos

2.2.1.1. Material vegetal

En todos los ensayos, salvo indicación contraria, se utilizaron cinco cultivares de cebada cervecera comúnmente sembrados en Argentina (Quilmes Ayelén, Quilmes Palomar, Quilmes Painé, B1215 y Scarlett) (Cuadro 2.1). Todos estos cv., excepto B1215 que es muy susceptible a BPC, presentan una moderada resistencia al BPC (i.e., poseen una tasa de salida de la dormición intermedia). La semilla fue provista por Maltería Pampa S.A. y Cervecería y Maltería Quilmes S.A.I.C.AyG.

Cuadro 2.1. Características de los principales cultivares de cebada cervecera utilizados en esta tesis.

Cultivar	Año de lanzamiento	Susceptibilidad a BPC	Superficie sembrada (% del total) ¹
Quilmes Ayelén	1998	Moderada	24
B1215	1993	Alta	1
Quilmes Palomar	1994	Moderada	1
Quilmes Painé	1997	Moderada	12
Scarlett	1999	Moderada	45

¹ SAGPyA. Estimaciones Agrícolas. 2007. Cebada cervecera. Informe de cierre de campaña 2006/07.

2.2.1.2. Localidades y sitios

Los ensayos experimentales de ambiente térmico, fotoperiódico, y de disponibilidad hídrica y de nitrógeno durante el llenado de granos fueron conducidos en el campo experimental de la Cátedra de Cerealicultura, de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (FAUBA), ubicado en la ciudad de Buenos Aires, Argentina (34°25'S, 58°25'O).

La validación de los modelos predictivos de la susceptibilidad a BPC fue realizada durante la campaña 2007 en diferentes localidades del SE [Barrow (38°20'S, 60°13'O) y Tres Arroyos (38°23'S, 60°17'O)] y del SO [Coronel Suárez (37°28'S, 61°56'O) y Bordenave (37°46'S, 63°04'O)] de la provincia de Buenos Aires, la mayor zona productora de cebada cervecera de la Argentina.

Los experimentos para la determinación de la longevidad potencial de los lotes de cebada fueron realizados en las instalaciones del Laboratorio de Semillas de la FAUBA.

2.2.1.3. Arreglo espacial y manejo del cultivo

Todos los ensayos experimentales realizados en Buenos Aires (FAUBA), salvo indicación contraria, fueron conducidos de la siguiente manera:

Se utilizaron parcelas de 2,7 m² (aprox. 1,35 x 2,00 m). La distancia entre surcos fue de 0,15 m, y la densidad de siembra fue la suficiente como para obtener un stand final de 250 plantas m⁻². Todas las parcelas fueron fertilizadas en el estado de 2 hojas completamente expandidas, aplicando urea (46% N) hasta alcanzar un contenido total de 100 kgN ha⁻¹ en los primeros 60 cm del perfil del suelo. La cantidad de fertilizante aplicado en cada fecha de siembra varió en función del N presente en el suelo a la siembra (determinado a partir de análisis de suelo de muestras tomadas en cada fecha). El control de malezas se realizó de forma manual. El control de insectos y enfermedades se realizó a lo largo de todo el ciclo del cultivo, aplicando dimetoato (290 g p.a. ha⁻¹, como Galgofos, Chemotecnica S.A., Argentina) y tebuconazole (150 g p.a. ha⁻¹, como Folicur 25 EW, Bayer S.A., Argentina). Se aplicó riego suplementario toda vez que fue necesario para evitar el estrés hídrico.

2.2.1.4. Dinámica de salida de la dormición

El monitoreo del nivel de dormición de los granos a lo largo de su desarrollo y maduración se realizó a través de ensayos de germinación. Para ello se muestrearon espigas a partir de los 22 días post-antesis (DPA) cada 5-4 días hasta que se alcanzó la madurez de cosecha. En cada parcela se identificó a la fecha de antesis como la fecha en la cual las anteras comenzaron a liberar polen en el 50% de las plantas. En cada fecha de muestreo se tomaron al azar 6-7 espigas de la parte central de cada parcela, trillándose manualmente y seleccionando los granos de la porción media de la espiga para ser

utilizados inmediatamente en los ensayos de germinación. En cada uno de estos ensayos, 25 granos por muestra (una por parcela) se colocaron en cajas de Petri plásticas (90 mm diámetro, sobre 2 hojas de papel de filtro Whatman N° 5 y con 6 mL de agua destilada), incubándose a una temperatura de 20°C por 12 días. Las cajas se sellaron con film adherente con el objeto de evitar pérdidas de agua por evaporación. Se registró diariamente el número de granos germinados (radícula 1 mm), para luego calcular un índice de germinación (IG) (Ec. 2.1) (Steinbach *et al.* 1997; Rodríguez *et al.* 2001). En el cálculo del IG se asigna una mayor ponderación a los granos que germinaron primero y una menor ponderación a aquellos que germinaron más tarde:

$$IG = \left\{ \sum_{i=1}^{12} [12 - (i - 1)] \times n_i \right\} / 2,5 \quad [\text{Ec. 2.1}]$$

donde n_i es el número de granos germinados en el día i (y no el número acumulado de granos germinados) durante un período de 12 días de incubación. Este índice presenta valores que van desde 0 (germinación nula dentro del período de 12 días) hasta 120 (los 25 cariopses germinan el primer día). En cada fecha de muestreo los valores de IG obtenidos de las tres repeticiones de cada cultivar fueron promediados en una única observación \pm error estándar.

2.2.1.5. Dinámica de acumulación de materia seca y humedad en grano

En todos los experimentos a partir de los 22 DPA y cada 3 días durante el período de llenado se cosecharon al azar 4-5 espigas de cada parcela, y los granos del tercio medio de la espiga fueron separados, pesándose inmediatamente y luego secados en estufa a 80°C por 72 h para realizar las determinaciones de peso fresco (PF), peso seco (PS) y contenido relativo de humedad (base húmeda) en grano. Todas las determinaciones de peso se realizaron con una balanza de precisión (Mettler Toledo AB204, Suiza, resolución 0,1 mg).

2.2.2. Materiales y Métodos propios del Capítulo 2

2.2.2.1. Material vegetal

Para los ensayos de ambiente térmico se utilizaron los cinco cultivares de cebada cervecera descritos anteriormente. En los experimentos de fotoperíodo se emplearon solamente los cv. Quilmes Ayelén y Scarlett.

2.2.2.2. Diseño experimental y tratamientos

Los experimentos se condujeron en el campo experimental de la FAUBA, Buenos Aires, Argentina (ver detalles más arriba). Para obtener un rango de condiciones de temperatura durante el llenado de granos, todos los genotipos de cebada analizados en esta tesis fueron sembrados en cuatro fechas diferentes en los años 2004 (entre Julio y Octubre) y 2005 (entre Junio y Setiembre), y en tres fechas en 2006 (entre Julio y Setiembre). Para cada fecha de siembra y cultivar de cebada, dentro del campo experimental se instalaron parcelas de 2,7 m² siguiendo un diseño en bloques completamente aleatorizado (DBCA), con 3 repeticiones. Para conocer más detalles del arreglo espacial y manejo del cultivo ver el apartado 2.2.1.3.

Dada la metodología empleada para generar diferentes ambientes térmicos durante el llenado de granos (i.e., fechas de siembra escalonadas) era esperable que, al aplicar los tratamientos, otros factores ambientales también se modificaran (e.gr., fotoperíodo, humedad relativa). El fotoperíodo parece tener efectos sobre la salida de la dormición en semillas de varias especies. En la mayoría de los casos los días cortos se relacionan con un bajo nivel de dormición, aunque lo opuesto puede suceder en otras especies (ver Capítulo 1).

En cebada existen pocas evidencias del efecto del fotoperíodo sobre la dormición. Debido a estos escasos antecedentes y a la necesidad de conocer cómo este factor modula la salida de la dormición, se decidió explorar el efecto de la longitud del día (fotoperíodo) durante el desarrollo del grano en dos años diferentes (2008 y 2009), en los cultivares Quilmes Ayelén y Scarlett (los más importantes del mercado argentino, juntos suman cerca del 70% de la superficie sembrada con cebada cervecera; SAGPyA 2007). En ambos años experimentales se aplicaron los siguientes tratamientos durante el período de llenado efectivo de granos (i.e., a partir de los 10 días postfloración hasta MF): parcelas control, con fotoperíodo natural (Fn); y de alargamiento de fotoperíodo, Fn extendido en 2 h (Fn +2) y 4 h (Fn +4). En 2009 se realizó un tratamiento de acortamiento de fotoperíodo, reduciendo el Fn en 4 h (Fn -4). Las fechas de siembra fueron el 20 de Agosto de 2008 y el 22 de Agosto de 2009. Los experimentos siguieron un diseño de parcelas divididas (parcela principal: tratamiento de fotoperíodo; subparcela: genotipo), con 3 repeticiones. El manejo del cultivo se realizó según se describió en el apartado 2.2.1.3.

Los tratamientos de extensión de fotoperíodo se realizaron instalando luminarias sobre las parcelas principales. Cada luminaria estaba integrada por un tubo fluorescente de 40W y dos lámparas incandescentes de 25W, estas últimas para complementar el espectro lumínico de la radiación emitida por los tubos. La extensión del fotoperíodo se realizó “alargando” los crepúsculos vespertinos y matutinos en igual medida (i.e., 1 y 2 h para los tratamientos Fn +2 y Fn +4, respectivamente). El encendido y apagado automático de las luminarias se programó con “timers” digitales.

Para los tratamientos de acortamiento de fotoperíodo se utilizaron estructuras metálicas (i.e, de chapa) de un tamaño de 2,00x1,60x1,60 m (largo x ancho x alto) (Fig. 2.1). Estas estructuras, montadas sobre un sistema de rieles, se movían automáticamente a horas programadas con un timer para cubrir/descubrir la parcela, reduciendo el

fotoperíodo recibido por las plantas (Fig. 2.1). En las parcelas cubiertas el aislamiento lumínico fue prácticamente total. Las horas de luz se quitaban al atardecer y al amanecer para provocar el menor efecto posible en los niveles de radiación solar recibidos.

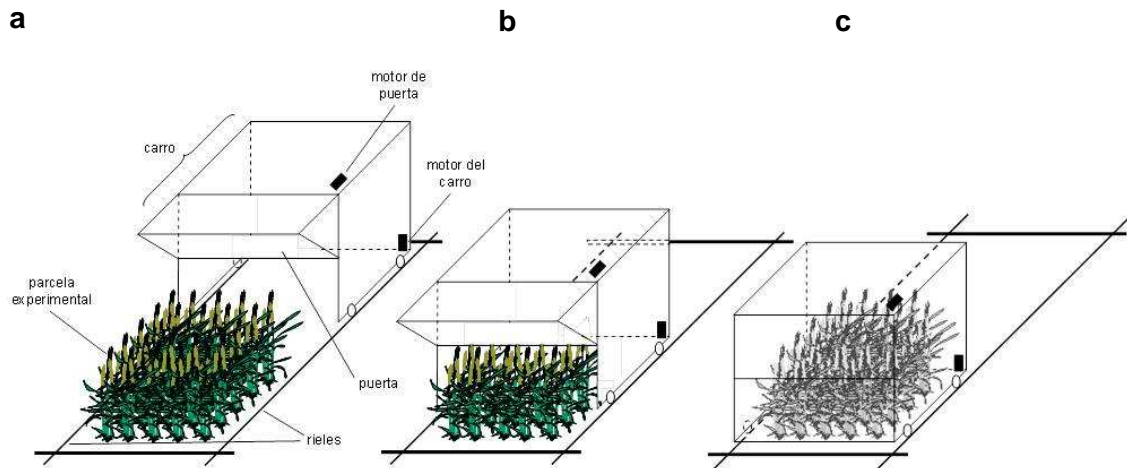


Figura 2.1. Esquema de las estructuras para el acortamiento del fotoperíodo, en su ciclo de “cierre”: a) abriendo la puerta; b) entrando el carro; c) cerrando la puerta.

2.2.2.3. Duración del período de llenado de granos

La duración en tiempo térmico (TT) del llenado de granos para cada cultivar de cebada se calculó siguiendo la metodología utilizada por Rodríguez *et al.* (2001). La duración en TT del llenado de granos es igual al TT acumulado desde antesis hasta la madurez fisiológica (MF) del cultivo (TT_{A-MF}). Este TT fue calculado como la sumatoria de los valores de la temperatura media diaria del aire (T_{md}) sobre una temperatura base (T_b) (Ec. 2.2) (Wiegand y Cuellar 1981; Pararajasingham y Hunt 1991). Estos valores de T_b para el período de llenado fueron estimados para cada uno de los cultivares, dado que se desconocían (excepto para Quilmes Palomar el cual fue estimado en 5,5°C por Rodríguez *et al.* en 2001). Toda vez que los valores de T_{md} fueron menores que la T_b , se incluyó cero en la sumatoria [si $(T_{md} - T_b) < 0$, entonces $(T_{md} - T_b) = 0$].

$$TT_{A-MF} = \sum_{d=A}^{MF} (T_{md} - T_b) \quad [Ec. 2.2]$$

donde d es cualquier día en el intervalo antesis-MF.

El momento de MF para cada parcela fue determinado:

- i) físicamente: estabilización del PS de los granos durante el llenado;
- ii) matemáticamente: a través de un modelo bilineal (Miralles *et al.* 1996; Rodríguez *et al.* 2001) (i.e., el PS del grano está descrito por dos ecuaciones con una condición c ; Ec. 2.3 y 2.4). Dado que los granos desarrollados a menores temperaturas (i.e., fechas de siembra tempranas) acumulan más materia seca a lo largo de su llenado, los datos de PS de los granos fueron expresados en forma relativa (PS_r) al máximo peso alcanzado en cada caso. La evolución del PS_r a lo largo del llenado fue descrita por las dos ecuaciones siguientes (Miralles *et al.* 1996):

$$PS_r = a + b \times x \quad \text{si } x \leq c \quad [\text{Ec. 2.3}]$$

$$PS_r = a + b \times c \quad \text{si } x > c \quad [\text{Ec. 2.4}]$$

En estas funciones el parámetro a es la ordenada al origen (kg kg^{-1}), b es la tasa de aumento del PS_r ($\text{kg kg}^{-1} \text{ } ^\circ\text{Cd}^{-1}$) durante el período de llenado efectivo de granos, c es el TT al cual finaliza el llenado (i.e., MF), y x es el TT acumulado ($^\circ\text{Cd}$) desde antesis. Para cada uno de los cultivares, los parámetros a , b y c fueron iterados sucesivamente por ajuste de mínimos cuadrados hasta que no se obtuvieron mayores aumentos en el valor de r^2 para la relación entre PS_r y el TT acumulado desde antesis. Estas iteraciones fueron realizadas usando la rutina de optimización del programa TableCurve (Jandell 1991). La rutina de optimización fue repetida para valores de TT desde antesis acumulados bajo diferentes valores de T_b . El valor de T_b que maximizó el ajuste entre PS_r y TT acumulado desde antesis, cuantificado a través del r^2 , fue seleccionado como el valor de T_b para la etapa de llenado de granos de cada cultivar analizado en este trabajo, siendo empleado en todos los cálculos de TT.

Los datos de temperatura del aire necesarios para realizar estos cálculos se obtuvieron de la estación meteorológica (Vantage Pro2, Davis Instruments, USA) que se encuentra instalada dentro del campo experimental. Las determinaciones de PS de los granos fueron realizadas según se describe en las generalidades de Materiales y Métodos que aparecen en este Capítulo.

2.2.2.4. Generación de los modelos predictivos de la susceptibilidad a BPC

Se siguió la metodología utilizada por Rodríguez *et al.* (2001), con algunas modificaciones. El status hídrico de la semilla resulta un buen indicador de su estado de desarrollo y maduración (Bradford 1994; Saini y Westgate 2000). Se ha reportado que la dinámica de secado del grano tiene impacto en el patrón de salida de la dormición de varias semillas (Nicholls 1979; Sawhney y Naylor 1982; Bewley *et al.* 1989; Oishi y Bewley 1992). Rodríguez *et al.* (2001) cuantificaban la dormición del grano 12 días después de MF, considerando que ese momento era lo suficientemente representativo

del nivel de dormición del grano durante la ventana que va desde MF a MC y, entonces, era indicativo de la susceptibilidad a BPC del cultivo. En el presente trabajo se midió el nivel de dormición cuando los granos habían alcanzado un determinado contenido hídrico (en lugar de medirlo después de una cierta cantidad de días después de MF). Esto permitió comparar los niveles de dormición de granos provenientes de cultivos con diferentes tasas de secado de granos (resultantes de distintas condiciones ambientales durante el período de secado entre fechas de siembra).

Para cada cultivar de cebada se relacionó la temperatura experimentada por el cultivo durante el llenado de granos con el valor de IG de granos cosechados con un contenido hídrico de 20-10% (base húmeda) (aprox. 15 días después de MF). Este valor de IG fue un buen estimador de la tasa con que los granos perdieron su dormición y, entonces, de la susceptibilidad del cultivo a sufrir BPC (Benech-Arnold *et al.* 1999; Rodríguez *et al.* 2001).

El procedimiento llevado a cabo para generar los modelos fue el siguiente:

1. Se calculó la temperatura media entre antesis y MF para cada fecha de siembra y cultivar, correlacionándose con los valores de IG de granos cosechados con un 20-10% (base húmeda) de contenido hídrico ($IG_{20-10\%CHG}$) para esa fecha de siembra y cultivar.
2. El TT desde antesis a MF fue arbitrariamente dividido en intervalos de TT de $50^{\circ}Cd$ de duración. dt es la fecha de comienzo y dT es la fecha de finalización del intervalo de TT, para cada fecha de siembra y cultivar.
3. La temperatura media dentro de cada intervalo de TT se calculó como:

$$T_{mTT} = \left[\sum_{d=dt}^{dT} (T_{md})_d \right] / n^{\circ} \text{de días dentro del intervalo } dt - dT \quad [\text{Ec. 2.5}]$$

4. Para cada intervalo de TT y genotipo, se relacionó la temperatura media dentro del mismo (T_{mTT}) y el $IG_{20-10\%CHG}$, para cada fecha de siembra.

Un intervalo dentro del llenado de granos con sensibilidad a la temperatura para la determinación de la tasa de salida de la dormición sería aquel que muestre una correlación significativa entre los valores de temperatura media dentro del intervalo (T_{mTT}) y sus respectivos $IG_{20-10\%CHG}$. Por simplicidad, y sobre la base de conocimiento previo (Rodríguez *et al.* 2001), se esperó una asociación de tipo lineal. La expresión general del modelo fue:

$$IG_{20-10\%CHG} = b \times (T_{mTT}) + a \quad [\text{Ec. 2.6}]$$

2.2.2.5. Validación de los modelos predictivos de la susceptibilidad a BPC

Se validaron los modelos generados para tres de los cultivares analizados (Quilmes Ayelén, Quilmes Painé y Scarlett). Para ello, durante la campaña agrícola 2007, se cosecharon granos de parcelas experimentales ubicadas en cuatro localidades diferentes del SE (Barrow y Tres Arroyos) y SO (Bordenave y Coronel Suárez) de la provincia de Buenos Aires (más detalles en el apartado 2.2.1.2 de este Capítulo). Dichas parcelas pertenecían a campos experimentales del INTA (CEI Barrow y EEA Bordenave) y de malterías comerciales (Cervecería y Maltería Quilmes -Tres Arroyos- y Maltería Pampa -Cnel. Suárez-), y la mayoría de ellas integraban la Red Nacional de Evaluación de Cultivares de Cebada Cervecera. Se utilizaron varias fechas de siembra para cada cultivar y localidad (n° total de parcelas=115). Todas las parcelas fueron conducidas en secano, y se aplicó fertilización nitrogenada en dosis agronómicas (i.e., 40-100 kgN ha⁻¹). La fecha de antesis fue estimada a partir de la fecha de espigazón (40°Cd antes de la espigazón en el 50% de las plantas de la parcela) (Rodríguez *et al.* 2001).

Los datos de temperatura se obtuvieron de las estaciones meteorológicas más cercanas (dentro de los mismos campos experimentales en algunas localidades). El momento de MF para cada parcela fue identificado cuando el TT acumulado después de antesis alcanzó el valor estimado previamente para cada cultivar. Entre los 5-15 días después de MF, se cosecharon al azar 15-20 espigas de cada parcela. Estas muestras se almacenaron a -20°C hasta que se realizó el ensayo de germinación (ver apartado 2.2.1.4).

Dado que el 2007 fue un año con precipitaciones menores a las normales en toda la Región Pampeana, se estimó la severidad del estrés hídrico durante el llenado sufrido por el cultivo de cebada en las parcelas de validación. En este sentido, y como una medida de la oferta y demanda de agua para/del cultivo, se calculó la relación entre la evapotranspiración mensual real y potencial del cultivo (rel. ETRc/ETPc) para cada localidad de validación en el último trimestre del año (período en el que ocurre el llenado de granos). Dada la falta de algunos datos meteorológicos no se pudo utilizar la fórmula de Penman Monteith, método de referencia según FAO (Allen *et al.* 1998), para la estimación de la ETP. En su lugar se utilizó la fórmula de Turc (1961; Ec. 2.7), que se ha visto produce estimaciones de la ETP muy parecidas al método de referencia en ambientes de clima húmedo y sub-húmedo de la provincia de Buenos Aires (Ocampo *et al.* 2009; Ocampo y Rivas 2010) y en otras regiones húmedas del mundo (Trajkovic y Kolakovic 2009). La metodología de Turc (1961) sigue la ecuación 2.7:

$$ETP = 0,4(R_i + 50) \left(\frac{T}{T + 15} \right) \left(\frac{1 + (50 - HR)}{70} \right) \quad [\text{Ec. 2.7}]$$

donde ETP es la evapotranspiración potencial mensual (mm); R_i es la radiación global incidente media diaria del mes (cal cm⁻² d⁻¹); T es la temperatura media diaria del mes (°C); y HR es la humedad relativa media diaria (%).

Los valores de los coeficientes de cultivo (K_c) utilizados para estimar la ETPc fueron 1,00; 0,90 y 0,70 para los meses de octubre, noviembre y diciembre, respectivamente. La ETRc fue estimada a partir de la metodología de balance hídrico, considerando las precipitaciones mensuales y el almacenaje de agua del suelo en cada sitio de validación.

2.2.2.6. Análisis estadístico

Los valores de $IG_{20-10\%CHG}$ (promedios de 3 submuestras) obtenidos para cada una de las fechas de siembra y cultivares de cebada fueron considerados como observaciones independientes. Las relaciones entre $IG_{20-10\%CHG}$ y los valores de temperatura media fueron puestas a prueba con análisis de correlación, probándose la significancia de los coeficientes de correlación (r). Las asociaciones que resultaron ser significativas fueron descritas por modelos de regresión lineal simple. Las diferencias entre los parámetros de los modelos lineales generados fueron evaluadas estadísticamente realizando una prueba F (Statistix v7.0, 2000). Los análisis de correlación y las pruebas F se consideraron significativas al $p < 0,05$.

2.3. Resultados

2.3.1. Duración del llenado de granos y momento de madurez fisiológica

En el Cuadro 2.2 se presenta, para cada cultivar de cebada, el TT acumulado entre antesis y MF calculado a partir de un análisis de regresión bilineal (Fig. 2.2) y el valor de temperatura base que maximizó el ajuste de los datos a ese modelo de regresión. Para todos los cultivares, la duración del período de llenado de granos estuvo entre los 345 y los 393°Cd (el cv. Quilmes Painé exhibió la menor duración, mientras que B1215 la mayor). La temperatura base (T_b) para este período fue similar para todos los cultivares (ca. 5,0°C), excepto para Scarlett el cual mostró un valor marcadamente mayor (7,5°C). El valor de T_b hallado para Q. Palomar coincidió con el reportado por Rodríguez *et al.* (2001), mientras que los valores para los otros genotipos analizados en este trabajo fueron similares a los encontrados en otros cultivares de cebada (Goyne *et al.* 1996). La duración del llenado de granos en el cv. Q. Palomar informada por Rodríguez *et al.* (2001) fue mayor (440°Cd) a la hallada en los presentes experimentos (347°Cd).

Cuadro 2.2. Duración del período de llenado de granos (se indica el error estándar SE) y temperatura base para dicho período para cada cultivar de cebada.

Cultivar	n	r^2 ajustado	Duración llenado de granos (°Cd)	SE (°Cd)	Temperatura base (°C)
Quilmes Ayelén	291	0,7098	377	8,3	5,0
B1215	309	0,7191	393	8,7	4,5
Quilmes Palomar	308	0,5567	347	9,8	5,5
Quilmes Painé	279	0,6523	345	8,3	5,0
Scarlett	251	0,5563	358	11,8	7,5

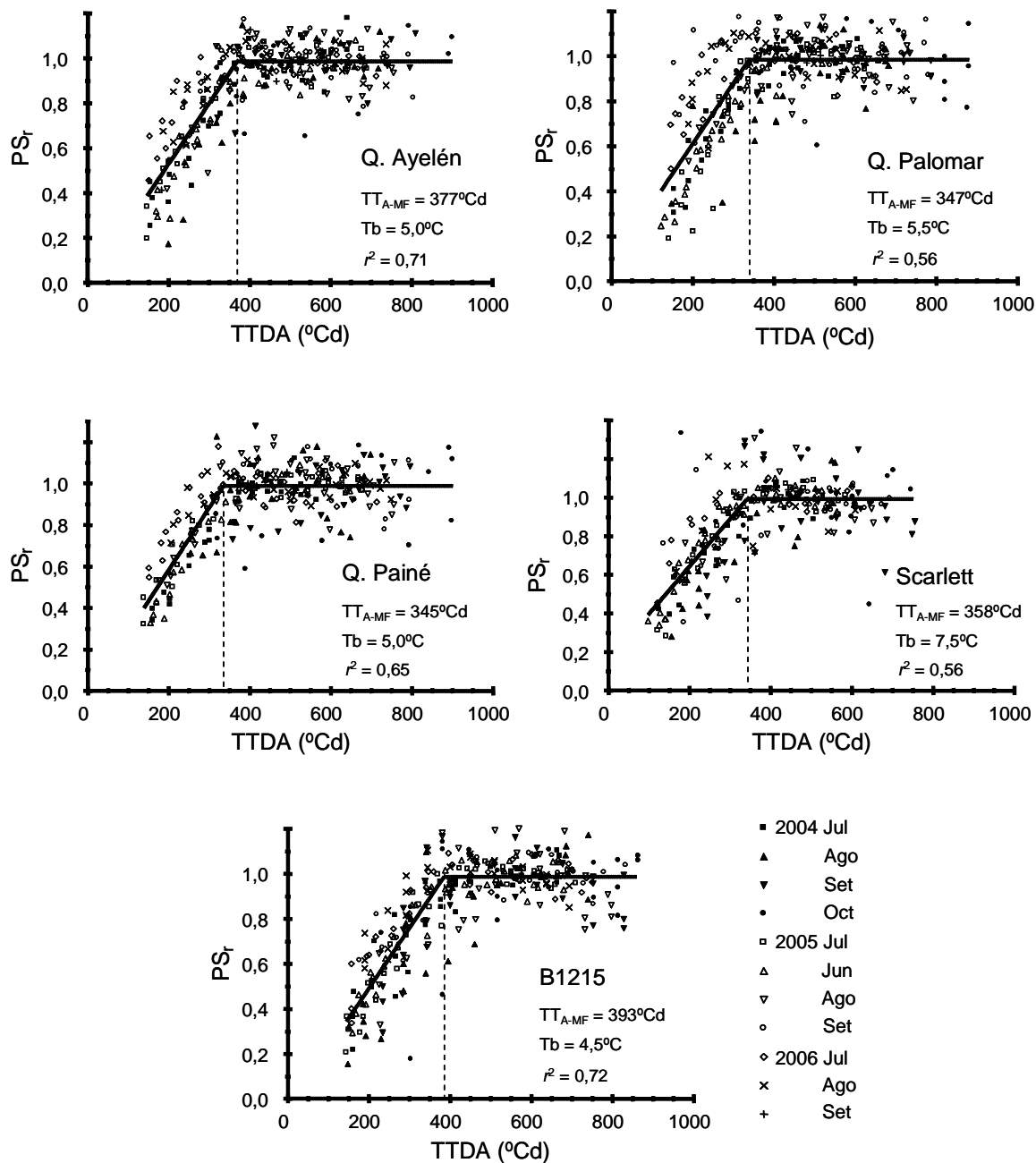


Figura 2.2. Evolución del peso seco relativo de granos (PS_r) en función del tiempo térmico acumulado desde antesis (TTDA), para cada una de las fechas de siembra y cultivares analizados. En cada variedad, el tiempo térmico fue acumulado bajo una determinada temperatura base que maximizaba el ajuste de los datos a un modelo de regresión bilineal. La línea discontinua indica el momento de MF.

2.3.2. Dinámica de salida de la dormición

El patrón de salida de la dormición de cada cultivar de cebada fue visto como la evolución del IG de los granos a lo largo del desarrollo y maduración de las semillas. Se muestra la evolución del IG de granos de todas las variedades, en escalas en TT y días (DDMF), antes y después de MF, respectivamente; y en contenido hídrico relativo de granos (%CHG) (Fig. 2.3a, b, c). Para todos los cultivares de cebada el IG permaneció cercano a cero hasta MF (Fig. 2.3a), indicando que virtualmente no existe riesgo de brotado en etapas previas a MF. Los valores de IG comenzaron a incrementarse después de MF, pero sin seguir un patrón definido (i.e., sigmoidal o lineal). Para algunas fechas de siembra y cultivares la evolución del IG mostró un patrón bilineal, con plateau (Fig. 2.3b). Otras fechas exhibieron un incremento del IG a partir de MF, manteniéndose estable o aún disminuyendo temporalmente entre los 5-15 DDMF (Fig. 2.3b). Luego, el IG continuó aumentando, alcanzándose los máximos valores hacia los 30 DDMF o incluso más tardíamente (Fig. 2.3b). Todos los cultivares de cebada presentaron estos dos tipos de patrones de evolución del IG, siendo B1215 el cultivar que mostró el más rápido aumento del IG durante la maduración en concordancia con su alta susceptibilidad a BPC. Recién después de alcanzada la MF se hallaron valores de IG contrastantes entre fechas de siembra, para todos los cultivares analizados. Entre los 5 y 25 DDMF se encontraron diferencias significativas entre fechas de siembra, observándose la mayor variabilidad entre los 8 y 13 DDMF, con valores de IG que fueron desde 11 a 100 (Fig. 2.3b). Estas diferencias en los valores de IG seguramente reflejan diferencias en la susceptibilidad a BPC. De hecho, un IG de 27 indica un 2% de granos germinados después de 48 h de imbibición a 20°C, mientras que un IG de 111 representa un 87% de germinación después del mismo período (Cuadro 2.3).

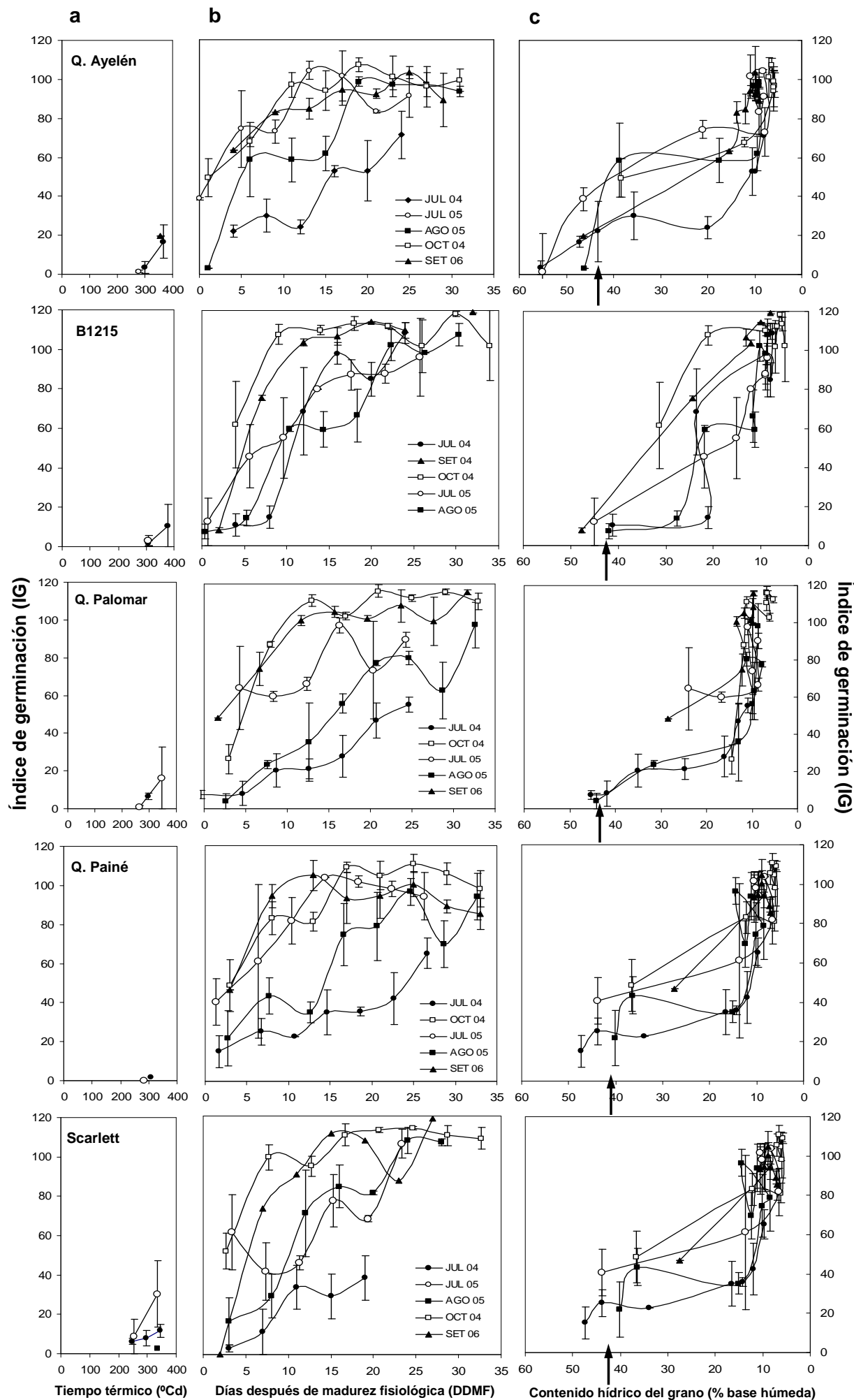




Figura 2.3. Índice de germinación de granos cosechados en diferentes momentos (a) antes (escala en tiempo térmico) y (b) después de MF (escala en días calendario) para todos los cultivares de cebada sembrados en diferentes fechas durante los años 2004, 2005 y 2006. (c) El mismo patrón de evolución del IG graficado en una escala de contenido hídrico relativo en grano. Cada valor es el promedio de tres repeticiones. La flecha vertical indica el momento de MF. Las barras verticales indican el error estándar (SE) cuando son más grandes que el símbolo.

Cuadro 2.3. Evolución diaria del porcentaje de germinación acumulado de granos (cv. Quilmes Ayelén) con cinco diferentes valores de IG, incubados a 20°C. Los valores son promedios de tres pruebas de germinación independientes con el mismo IG.

IG	Germinación (%)			
	Día de incubación			
	1	2	3	4
6	0	0	0	1
27	0	2	6	10
44	2	11	21	34
82	18	39	62	70
111	53	87	96	97

Cuando los valores de IG se relacionaron con el contenido hídrico relativo en grano (%CHG) se evidenció un patrón particular para la mayoría de los cultivares y fechas de siembra. El IG comenzó a incrementarse cuando el grano de cebada alcanzó un contenido de humedad de 55-45%, inmediatamente antes del momento de MF (alrededor de 45-40% CHG) (Fig. 2.3c). Luego, el IG se estabilizó entre el 40 y 15% de CHG, para la mayoría de las fechas de siembra. Más adelante, el IG continuó aumentando rápidamente hasta que se alcanzaron los máximos valores alrededor de 12-8% CHG (Fig. 2.3c). Utilizando esta escala de humedad en grano se identificó un rango de contenido hídrico (i.e., 20-10%CHG, alrededor de los 15 DDMF para la mayoría de las fechas de siembra) en el cual se hallaron, para todos los cultivares, las máximas diferencias en IG entre fechas de siembra (cerca de MF y MC el IG fue similar en todas las fechas), probablemente asociadas a una diferente susceptibilidad a BPC del cultivo.

Dado que la dinámica de secado del grano puede modificar el patrón de salida de la dormición, el uso de una escala basada en el contenido hídrico relativo del grano permite comparar el nivel de dormición de granos provenientes de cultivos con diferentes tasas de secado de granos. De esta forma, las diferencias encontradas en IG serían causadas por diferentes condiciones ambientales (e.gr., condiciones térmicas) exploradas por el cultivo durante el llenado de granos más que por distintos contenidos hídricos en grano al momento de cosecha (Fig. 2.3b, c).

2.3.3. Salida de la dormición y temperatura durante el llenado de granos

Dado que la temperatura durante el llenado de granos ha sido identificada previamente como uno de los principales factores moduladores de la dormición del grano en cebada y otras especies, se eligió a esta variable para explicar el alto grado de variabilidad en la tasa de salida de la dormición después de MF entre fechas de siembra y años, en un amplio rango de cultivares de cebada.

Cuando los valores de $IG_{20-10\%CHG}$ se relacionaron con la temperatura media durante todo el período de llenado de granos (i.e., desde antesis a MF) (T_{mA-MF}) no se encontraron correlaciones significativas ($p < 0,001$) para ningún cultivar (Fig. 2.4). Por lo tanto, se buscaron relaciones entre los valores de $IG_{20-10\%CHG}$ y la temperatura media experimentada durante “ventanas” de tiempo más estrechas dentro del período de llenado (intervalos de TT) (Fig. 2.4). Se obtuvieron correlaciones positivas significativas ($p < 0,001$) entre el $IG_{20-10\%CHG}$ y la temperatura media durante intervalos de TT particulares para cada cultivar de cebada, excepto para B1215 (Figs. 2.4 y 2.5; Cuadro 2.4). La ubicación relativa de estas ventanas sensibles a la temperatura dentro del período de llenado de granos fue muy similar entre cultivares de cebada (Fig. 2.6). Todas ellas se localizaron en las últimas etapas del llenado: 275-325°Cd desde antesis para Q. Ayelén y Q. Painé; 300-350°Cd para Q. Palomar; y 250-300°Cd para Scarlett (Cuadro 2.4). De esta manera, aquellos granos que experimentaron condiciones más cálidas durante las últimas etapas de su desarrollo presentaron un menor nivel de dormición (por lo menos en la etapa 20-10%CHG) que aquellos que experimentaron condiciones de menor temperatura durante la ventana de sensibilidad. También se hallaron correlaciones significativas ($p < 0,05$) entre el $IG_{20-10\%CHG}$ y la temperatura media en otros intervalos de TT (Fig. 2.4), pero la mayor correlación se obtuvo sólo para un determinado intervalo de TT, particular para cada cultivar de cebada (Cuadro 2.4).

Cuadro 2.4. Regresión lineal $IG_{20-10\%CHG}$ - T_{mTT} : intervalo de TT significativo ($p < 0,001$), pendiente (b) y ordenada al origen (a), y valor del coeficiente de determinación ajustado (r^2) de esta relación; y r^2 de la regresión lineal entre el $IG_{20-10\%CHG}$ y la temperatura media durante todo el período de llenado de granos; para cada cultivar de cebada.

Cultivar	Ventana de sensibilidad (intervalo de TT) (°Cd)	b	a	Coeficiente de determinación (r^2)	
				Intervalo de TT	Todo el llenado de granos
Q. Ayelén	275-325	8,93	-131,5	0,8215***	0,0706
B1215	325-375	2,48	25,8	0,0538	0,0124
Q. Palomar	300-350	5,62	-65,4	0,8516***	0,4750*
Q. Painé	275-325	6,99	-81,7	0,8110***	0,3696*
Scarlett	250-300	5,02	-62,7	0,8715***	0,5604**

* significativo al $p < 0,05$

** significativo al $p < 0,01$

*** significativo al $p < 0,001$

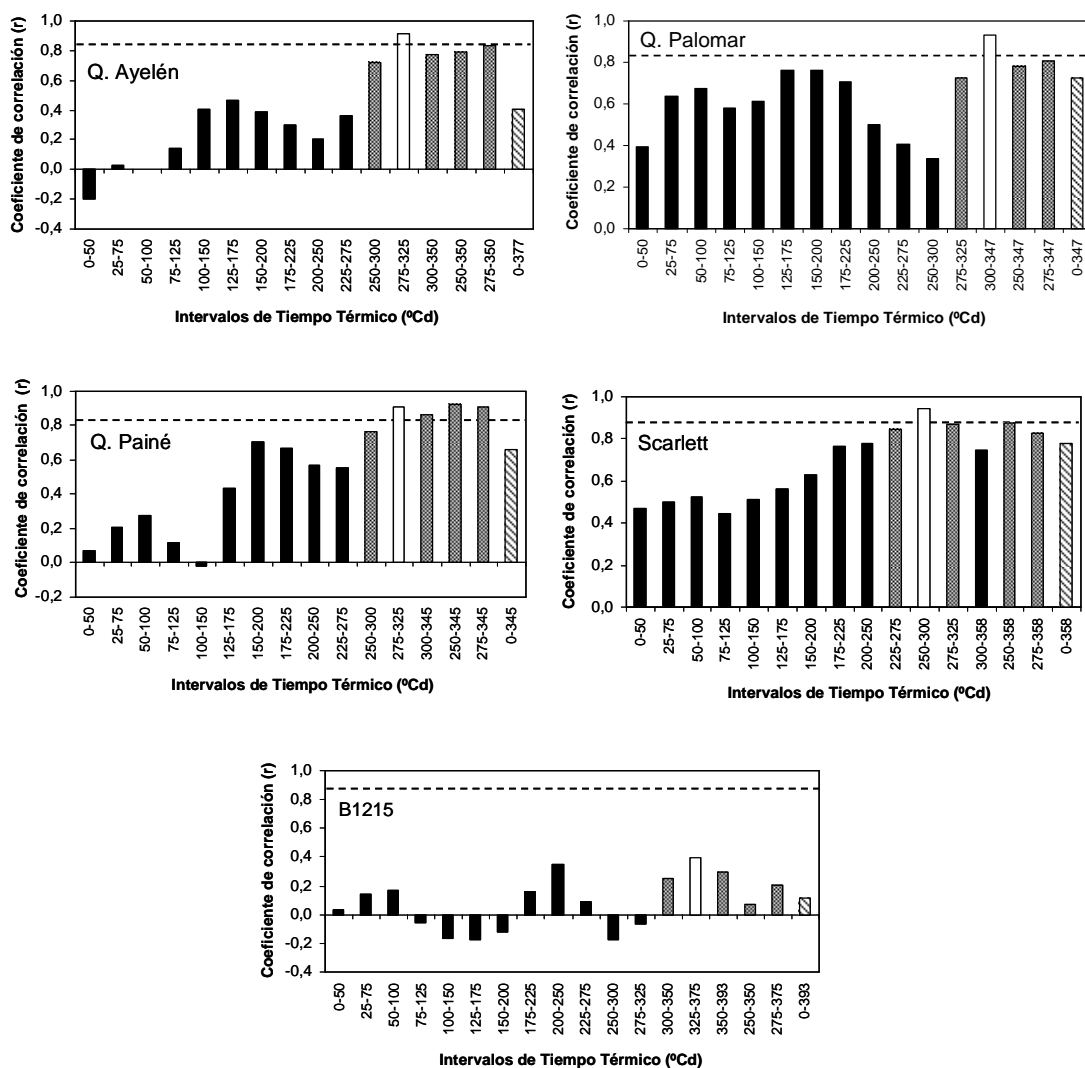


Figura 2.4. Coeficientes de correlación (r) obtenidos entre los valores de $\text{IG}_{20-10\% \text{CHG}}$ y la temperatura media del aire dentro de diferentes intervalos de 50°Cd de duración a lo largo del período de llenado de granos, para los cinco cultivares de cebada (Quilmes Ayelén, Q. Palomar, Q. Painé, Scarlett y B1215). Las barras vacías indican el intervalo de TT significativo al $p < 0,001$ (las barras punteadas incluyen o solapan este intervalo); las barras rayadas indican la correlación obtenida para la temperatura media durante todo el llenado de granos ($\text{Tm}_{\text{A-MF}}$). La línea horizontal discontinua indica la significancia estadística al $p < 0,001$. Cada correlación incluye once observaciones, excepto para Scarlett y B1215 (diez observaciones).

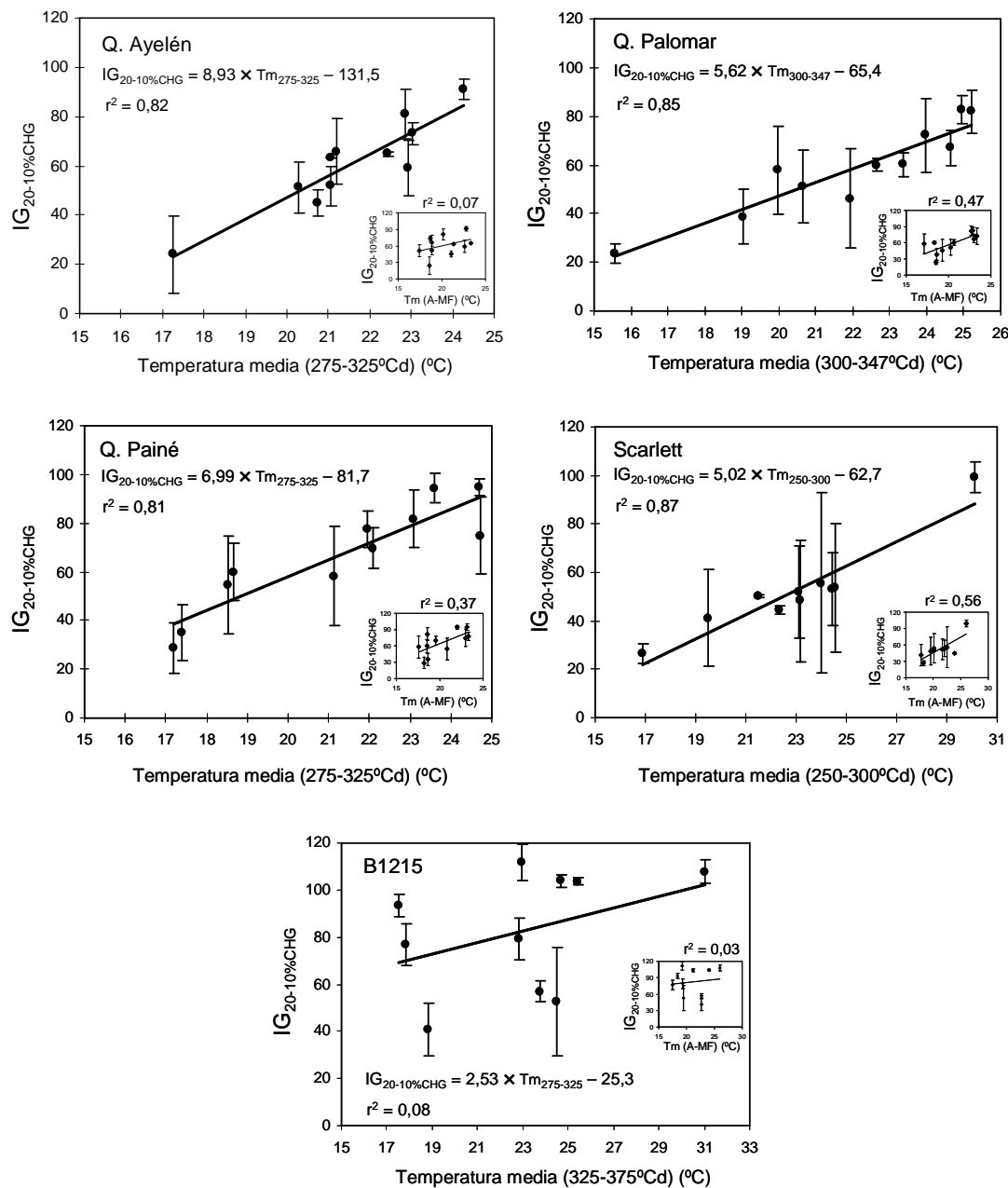


Figura 2.5. Regresión lineal entre el IG de granos cosechados con 20-10% de contenido hídrico (base húmeda) e incubados a 20°C, y la temperatura media del aire dentro del intervalo de tiempo térmico de mejor ajuste, para cada cultivar de cebada. Las ecuaciones de regresión se muestran dentro de cada gráfico. Los gráficos internos muestran las regresiones para todo el período de llenado de granos. Las barras verticales indican el error estándar (SE) cuando son más grandes que el símbolo.

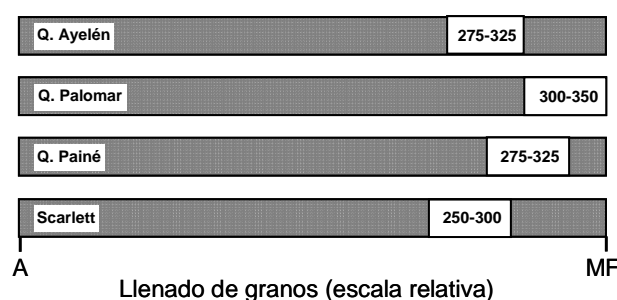


Figura 2.6. Ubicación relativa de la ventana de sensibilidad a la temperatura dentro del período de llenado de granos, para cada cultivar de cebada. Los números indican los intervalos de TT.

La relación entre la T_{mTT} y el $IG_{20-10\%CHG}$ fue descrita por un modelo de regresión lineal con la expresión general:

$$IG_{20-10\%CHG} = b \times (T_{mTT}) + a$$

En el Cuadro 2.4 se presentan los valores de los parámetros de la regresión lineal (pendiente b y ordenada al origen a) para cada cultivar de cebada.

Para cada uno de los cultivares, la temperatura durante la ventana de sensibilidad explicó, mejor que ninguna otra temperatura durante todo o parte del llenado, la variabilidad observada en los valores de $IG_{20-10\%CHG}$ calculados en diferentes años experimentales y fechas de siembra.

2.3.4. Comparación entre modelos cultivar - específicos vs. un modelo general

Se consideró la posibilidad de establecer un único modelo de regresión lineal entre el $IG_{20-10\%CHG}$ y la temperatura durante la ventana de sensibilidad para todos los cultivares de cebada (excepto B1215). Se compararon los parámetros (pendiente y ordenada al origen) de los modelos de cada cultivar contra aquellos de un modelo general que incluye datos de todos los cultivares analizados (excepto B1215). Este modelo general fue construido usando datos de temperatura de: la ventana de sensibilidad de mejor ajuste definida para cada cultivar (Modelo General 1) (Cuadro 2.5); o una única ventana de sensibilidad para todos los cultivares (forma universal, Modelo General 2) (Cuadro 2.6). Usando una única ventana para todos los cultivares el mejor ajuste se obtuvo para la ventana de TT que va desde los 300 a los 350°Cd desde anátesis. Ambas formas de producir un modelo general arrojaron regresiones significativas entre el IG y la temperatura; sin embargo, el mejor ajuste fue obtenido cuando se mantuvieron las ventanas de sensibilidad definidas para cada cultivar

(Modelo General 1; $r^2=0,6127$, $p<0,0001$) (Cuadros 2.5 y 2.6). Si sólo se consideran los puntos de datos en el rango de temperaturas más probables para las zonas de producción de cebada cervecera en Argentina (i.e., 17-21°C) el ajuste del Modelo General 1 cae ligeramente ($r^2=0,5446$, $p<0,001$), aunque la pendiente y la ordenada al origen no se modifican significativamente ($p>0,61$ y $p>0,86$, respectivamente). Cuando se contrastaron los parámetros del modelo de cada cultivar contra aquellos de ambos Modelos Generales tres (Q. Palomar, Q. Painé y Scarlett) o dos (Q. Palomar y Scarlett) cultivares de un total de cuatro no mostraron diferencias significativas en el valor de la pendiente ($p>0,25$) al compararse con el Modelo General 1 ó 2, respectivamente (Cuadros 2.5 y 2.6). Las ordenadas al origen no difirieron significativamente ($p>0,25$) en dos (Q. Ayelén y Q. Palomar) de los cuatro cultivares analizados, con ambos Modelos Generales (Cuadros 2.5 y 2.6).

Cuadro 2.5. Comparación de parámetros (pendiente b y ordenada al origen a) entre el modelo de cada cultivar de cebada y un Modelo General construido con datos de todas las variedades (excepto B1215). Datos de temperatura provenientes de la ventana de sensibilidad de mejor ajuste para cada cultivar (Modelo General 1).

Cultivar	n	r^2 ajustado	b	a	MSE	Comparación (valor p)	
						b	a
Modelo General 1	43	0,6127	5,38	-58,1	140,7	-	-
Q. Ayelén	11	0,8215	8,93	-131,5	58,6	0,0828	0,4044
Q. Palomar	11	0,8516	5,62	-65,4	47,8	0,8534	0,6173
Q. Painé	11	0,8110	6,99	-81,7	88,0	0,2674	0,0086
Scarlett	10	0,8715	5,02	-62,7	43,8	0,7720	0,0020

Cuadro 2.6. Comparación de parámetros (pendiente b y ordenada al origen a) entre el modelo de cada cultivar de cebada y un Modelo General construido con datos de todas las variedades (excepto B1215). Datos de temperatura provenientes de una única ventana de sensibilidad ubicada entre los 300-350°Cd desde antesis (Modelo General 2).

Cultivar	n	r^2 ajustado	b	a	MSE	Comparación (valor p)	
						b	a
Modelo General 2	43	0,5528	4,70	-43,8	162,5	-	-
Q. Ayelén	11	0,8215	8,93	-131,5	58,6	0,0527	0,4073
Q. Palomar	11	0,8516	5,62	-65,4	47,8	0,5154	0,7316
Q. Painé	11	0,8110	6,99	-81,7	88,0	0,1361	0,0139
Scarlett	10	0,8715	5,02	-62,7	43,8	0,8120	0,0069

2.3.5. Salida de la dormición y fotoperíodo durante el llenado de granos

Se observaron importantes diferencias entre años en la dinámica de salida de la dormición, en ambas variedades de cebada (Quilmes Ayelén y Scarlett). En promedio, e independientemente del tratamiento de fotoperíodo aplicado, en 2008 la salida de la dormición fue mucho más rápida que en el año 2009 (Fig. 2.7). Si bien todos los tratamientos de fotoperíodo fueron realizados bajo riego, esta diferencia puede atribuirse a una menor disponibilidad efectiva de agua para el cultivo durante la campaña 2008 (ver Capítulo 3). En este año, una sequía de gran intensidad afectó casi la totalidad de la región pampeana en combinación con una alta demanda atmosférica (SMN 2009). Bajo estas condiciones, el deterioro de la fertilidad física del suelo (i.e., estructura y estabilidad estructural) y de las propiedades edáficas (e.g., conductividad hidráulica) del campo experimental donde se realizaron los ensayos bien pudieron afectar negativamente el suministro de agua hacia las plantas y no satisfacer su demanda inmediata, provocando un efecto de “sequía” sobre el nivel de dormición de los granos aunque el contenido hídrico del suelo fuera cercano a capacidad de campo. Según ensayos realizados en esta tesis, la baja disponibilidad hídrica durante el llenado de granos tiene un fuerte efecto promotor sobre la salida de la dormición (ver Capítulo 3). Además, aunque en menor medida, las mayores temperaturas medias (ca. 2°C) durante la ventana de sensibilidad en 2008 con respecto a 2009 también contribuyeron a acelerar la salida de la dormición (ver anteriormente en este Capítulo).

En términos generales, los tratamientos de fotoperíodo no tuvieron efectos significativos ($p < 0,05$) sobre el patrón de salida de la dormición de ambos cultivares, en ninguno de los dos años experimentales (Fig. 2.7). Sin embargo, se encontraron dos particularidades, que se pusieron en evidencia en una u otra campaña según las condiciones ambientales imperantes durante cada año experimental. El cultivar Scarlett parecería haber respondido al alargamiento del fotoperíodo durante la fase de llenado efectivo aumentando el nivel de dormición durante la etapa de secado y maduración de los granos, con lo que se reduciría la susceptibilidad a BPC (Fig. 2.7b). Este efecto ($p < 0,05$) fue hallado en el año 2008, en granos cosechados a los 30 y 34 DPA en parcelas con fotoperíodo extendido en 4 h por sobre el fotoperíodo natural ($F_n + 4$) (Fig. 2.7b). En la campaña 2009 no se evidenció este efecto dado que todos los tratamientos mostraron una baja tasa de salida de la dormición (mientras que las condiciones ambientales durante el año 2008, que condujeron a una alta tasa de pérdida de la dormición, hicieron posible vislumbrar el mismo) (Fig. 2.7d). Aunque siguiendo la misma tendencia, el cultivar Q. Ayelén parecería haber respondido al acortamiento del fotoperíodo durante el llenado efectivo de granos reduciendo el nivel de dormición (i.e., aumentaría la susceptibilidad a BPC) (Fig. 2.7c). Este efecto ($p < 0,05$) se encontró en la campaña 2009, en granos cosechados a los 32 y 36 DPA en parcelas con fotoperíodo reducido en 4 h con respecto al fotoperíodo natural ($F_n - 4$) (Fig. 2.7c). De la misma manera que en la otra variedad, en este caso las condiciones ambientales durante el año 2008 (ver más arriba) no permitieron poner en evidencia tal efecto (i.e., todos los tratamientos exhibieron una alta tasa de salida de la dormición).

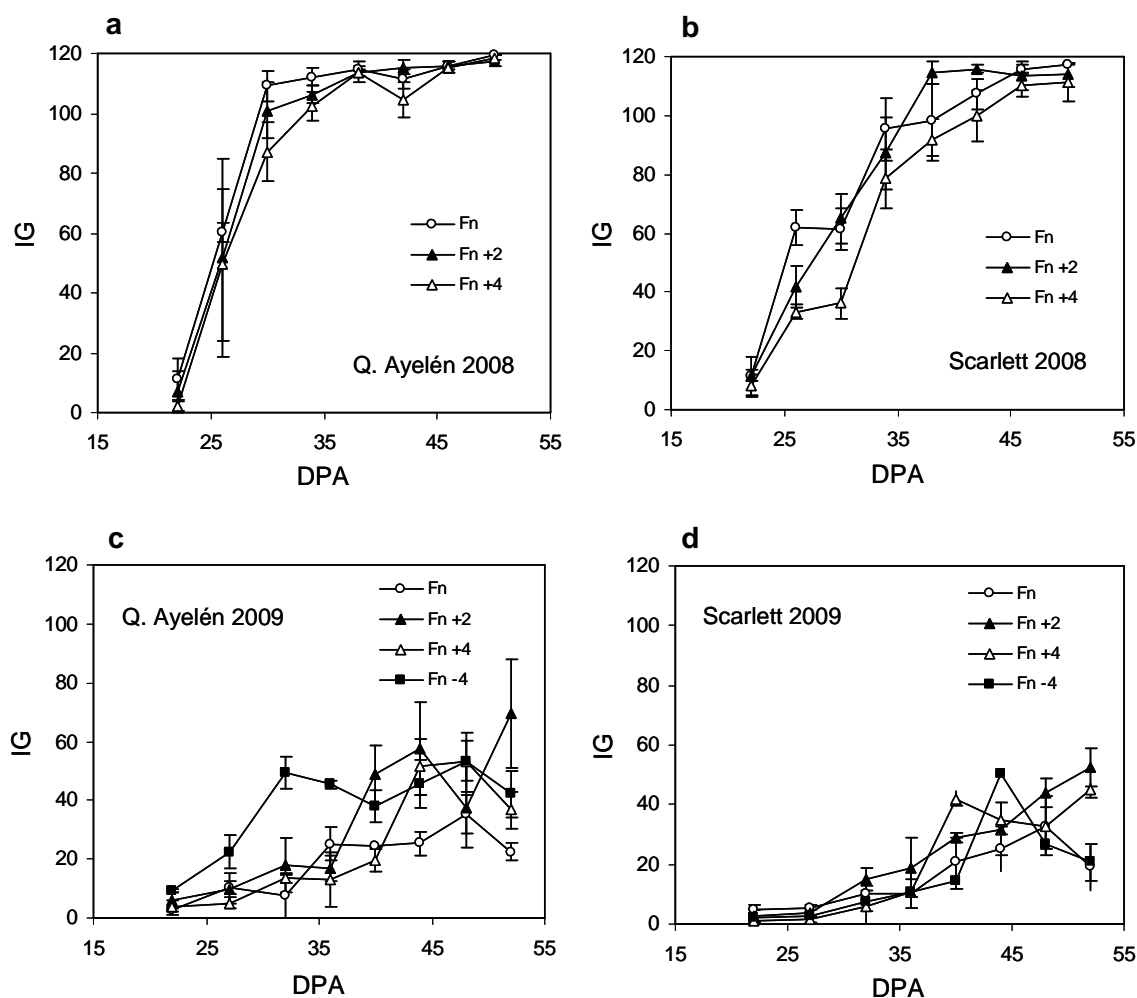


Figura 2.7. Índice de germinación (IG) de granos cosechados a diferentes días post-antesis (DPA) en parcelas bajo tratamiento de extensión [2 h (Fn +2) y 4 h (Fn +4)] o acortamiento [4 h (Fn -4)] del fotoperíodo durante el llenado de granos con respecto al fotoperíodo natural (Fn), para los cv. Quilmes Ayelén y Scarlett en dos años experimentales diferentes (2008 y 2009). Cada valor es el promedio de tres repeticiones. Las barras verticales indican el error estándar (SE) cuando son más grandes que el símbolo.

2.3.6. Validación de los modelos predictivos de la susceptibilidad a BPC

Se probó la bondad para predecir la susceptibilidad a BPC de los modelos generados para los cvs. Q. Ayelén, Q. Painé y Scarlett (estos tres cultivares suman aprox. el 98% del área total sembrada con cebada cervecera en Argentina; SAGPyA 2007). Estos modelos se contrastaron contra datos de campo independientes de parcelas experimentales comerciales de cuatro sitios del SE y SO de la provincia de Buenos Aires obtenidos durante el año 2007 (ver Materiales y Métodos. Generalidades). Para cada uno de estos cultivares, se obtuvo una asociación positiva y significativa entre el IG de granos cosechados a los 5-15 días después de MF ($IG_{5-15DDMF}$) y la temperatura

media registrada durante la ventana de sensibilidad definida previamente en TT (Fig. 2.8; Cuadro 2.7).

Cuando se comparó la línea de regresión de los datos de campo con el modelo experimental no se encontraron diferencias significativas en el valor de la pendiente, para ninguno de los cultivares validados (Cuadro 2.7). Sin embargo, la mayoría de los valores de IG observados fueron significativamente superiores a los predichos (Fig. 2.8), y la relación global IG-temperatura sufrió un desplazamiento hacia arriba, como ponen en evidencia las diferencias halladas en los valores de ordenada al origen entre las líneas de regresión de los datos de campo y los modelos experimentales (Cuadro 2.7).

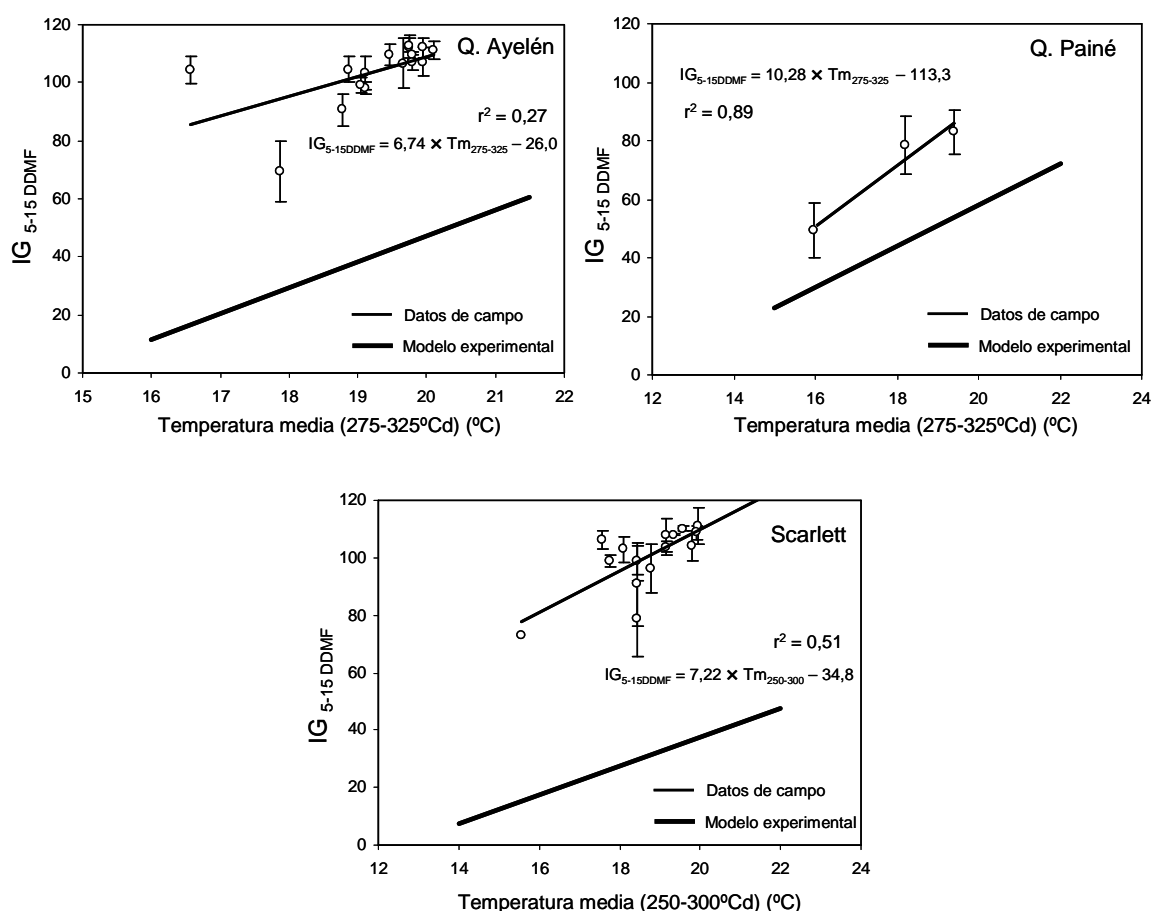


Figura 2.8. Relación lineal entre el IG 5-15 días después de MF ($IG_{5-15 DDMF}$) y la temperatura media durante la ventana de sensibilidad (definida previamente) en los sitios de validación, para tres cultivares de cebada. Para cada cultivar, se muestran la ecuación de la línea de regresión y el coeficiente de determinación ajustado (r^2) para los datos de campo. La línea gruesa indica el modelo experimental. Nótese que las pendientes de ambas líneas de regresión (datos de campo vs. modelo experimental) no difieren significativamente, para ningún cultivar (Cuadro 2.7). Las barras verticales indican el error estándar (SE) cuando son más grandes que el símbolo.

Cuadro 2.7. Parámetros (pendiente b y ordenada al origen a) y coeficiente de determinación ajustado (r^2) de la regresión lineal que describe la asociación entre el IG_{5-15 DDMF} y la temperatura media durante la ventana de sensibilidad en los sitios de validación, para cada cultivar de cebada. Comparación de parámetros entre la regresión lineal de los datos de campo y el modelo experimental generado previamente.

Cultivar	n	r^2 ajustado	valor p	Ventana de sensibilidad (intervalo de TT) (°Cd)	b	a	Comparación (valor p)	
							b	a
Q.Ayelén	16	0,2681	0,02	275-325	6,74	-26,0	0,4750	0,0000
Q. Painé	3	0,8937	0,15	275-325	10,28	-113,3	0,4065	0,0015
Scarlett	15	0,5056	0,002	250-300	7,22	-34,8	0,2258	0,0000

2.3.6.1. Condiciones ambientales en los sitios de validación

Las condiciones ambientales para el crecimiento y desarrollo del cultivo de cebada fueron diferentes entre el sitio experimental donde se generaron los modelos predictivos y los sitios de validación. La disponibilidad de agua durante el llenado de granos fue marcadamente menor en todas las localidades de validación: los modelos experimentales fueron desarrollados en cultivos bajo riego mientras que la validación fue realizada en parcelas bajo secano (y las precipitaciones en el año 2007 durante el período de llenado fueron menores a la media, en todos los sitios de validación) (Fig. 2.9). La severidad del estrés hídrico sufrido por el cultivo en las parcelas de validación fue estimada a través de la relación evapotranspiración mensual real del cultivo/evapotranspiración mensual potencial del cultivo (ET_{Rc}/ET_{Pc}) (ver Materiales y Métodos de este Capítulo). Esta relación fue calculada en cada sitio de validación y el experimental a partir de la metodología de balance hídrico, y la misma indica en qué medida la demanda de agua del cultivo fue satisfecha por la oferta proveniente de las precipitaciones/riego y del almacenaje del suelo (Cuadro 2.8). Teniendo en cuenta que el llenado tuvo lugar entre las dos últimas semanas del mes de octubre y la primera de diciembre en todos los sitios, en el Cuadro 2.8 puede observarse que los cultivos de cebada estuvieron sometidos a estrés hídrico durante el llenado en todas las localidades de validación (i.e., relación ET_{Rc}/ET_{Pc} <1). En cambio, en el sitio experimental donde fueron desarrollados los modelos predictivos (i.e., Buenos Aires) los cultivos no sufrieron restricciones hídricas (i.e., relación ET_{Rc}/ET_{Pc} ≈1), en ninguno de los tres años experimentales (Cuadro 2.8).

Por otra parte, se registraron mínimas diferencias en la longitud del día (fotoperíodo) durante el llenado de granos entre el sitio experimental y las áreas de validación (en promedio ca. 5 min mayor en estas últimas, para similares ambientes térmicos). La fertilización nitrogenada fue similar en ambos sitios de prueba.

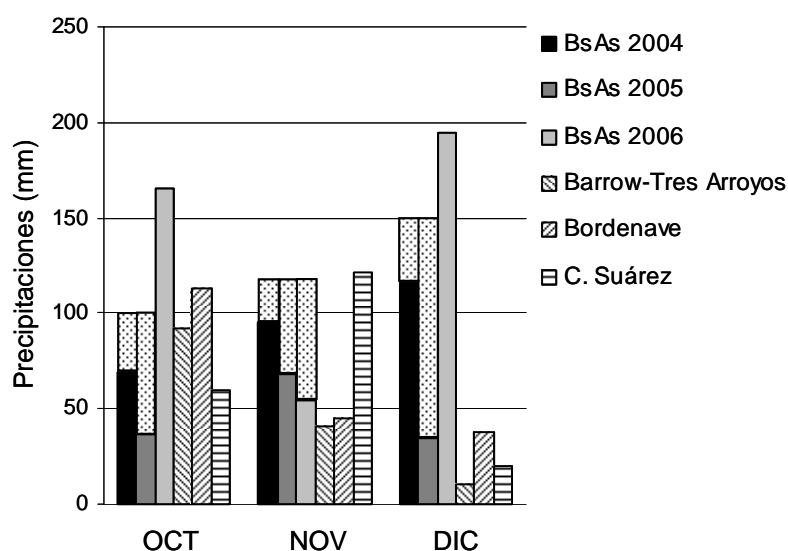


Figura 2.9. Lluvias (mm) durante el período de llenado de granos caídas en Buenos Aires en los años 2004, 2005 y 2006 (datos para el desarrollo de los modelos); y en los sitios de validación (año 2007). Las barras punteadas sobre la localidad de Buenos Aires indican la aplicación de riego suplementario (cuando fue necesario) para alcanzar precipitaciones totales mensuales de 100 mm en Octubre, 120 mm en Septiembre y 150 mm en Diciembre.

Cuadro 2.8. Evapotranspiración mensual potencial (ETPc) y real (ETRc) del cultivo de cebada, y la relación entre ambas (ETRc/ETPc), en los últimos tres meses del año para el sitio experimental (años 2004, 2005 y 2006) y los de validación (año 2007). La ETPc fue estimada por la metodología de Turc (1961), y la ETRc a partir de las precipitaciones de cada año particular y el almacenaje de agua en el suelo (ver Materiales y Métodos de este Capítulo).

Sitio y año		OCT	NOV	DIC
Buenos Aires 2004	ETPc (mm)	102,0	135,3	107,4
	ETRc (mm)	102,0	135,3	107,4
	ETRc/ETPc	1,00	1,00	1,00
Buenos Aires 2005	ETPc (mm)	101,1	143,0	105,6
	ETRc (mm)	101,1	143,0	105,6
	ETRc/ETPc	1,00	1,00	1,00
Buenos Aires 2006	ETPc (mm)	107,6	137,6	110,0
	ETRc (mm)	107,6	137,6	110,0
	ETRc/ETPc	1,00	1,00	1,00
Barrow-Tres Arroyos 2007	ETPc (mm)	98,3	124,8	107,9
	ETRc (mm)	98,3	74,5	10,2
	ETRc/ETPc	1,00	0,60	0,09
Bordenave 2007	ETPc (mm)	102,7	121,8	100,6
	ETRc (mm)	102,7	94,8	0,0
	ETRc/ETPc	1,00	0,78	0,00
Coronel Suárez 2007	ETPc (mm)	104,6	126,6	98,8
	ETRc (mm)	100,0	121,0	27,1
	ETRc/ETPc	0,96	0,96	0,27

2.4. Discusión

Con el fin de predecir la susceptibilidad a brotado de un cultivo de cebada, se encontraron relaciones positivas significativas entre la temperatura del aire experimentada por el cultivo durante una estrecha ventana del llenado de granos y su susceptibilidad a BPC, para un amplio rango de cultivares de cebada cervecera altamente difundidos en Argentina (Fig. 2.5 y Cuadro 2.4). El nivel de dormición de los granos, y entonces la susceptibilidad del cultivo a BPC, fue cuantificado cuando el grano de cebada alcanzó un 20-10% (base húmeda) de contenido hídrico, en lugar de medirlo luego de un cierto número de días después de MF, como en los experimentos de Rodríguez *et al.* (2001). Dado que se ha reportado que la dinámica de secado de los granos tiene efecto en el patrón de salida de la dormición de muchas semillas (Nicholls 1979; Sawhney y Naylor 1982; Bewley *et al.* 1989; Oishi y Bewley 1992), esta metodología supone algunas ventajas: permite comparar el nivel de dormición de granos provenientes de cultivos con diferentes tasas de secado de granos (resultantes de distintas condiciones ambientales durante el período de secado).

Dada la metodología empleada para generar diferentes ambientes térmicos durante el llenado de granos (i.e., fechas de siembra escalonadas) se pudo haber confundido el efecto de la temperatura con el de otros factores ambientales (e.gr., fotoperíodo). Con el fin de disipar interrogantes y realizar una correcta interpretación de los resultados experimentales presentados en este Capítulo se procedió a explorar el efecto de la longitud del día (fotoperíodo) durante el llenado de granos sobre la dinámica de salida de la dormición, en dos de los cultivares de cebada (Q. Ayelén y Scarlett). Si bien se encontró que el alargamiento o acortamiento excesivo (i.e., 4 h) del fotoperíodo durante el llenado con respecto al fotoperíodo natural causó algún tipo de efecto sobre el nivel de dormición (dependiendo de la variedad) (Fig. 2.7), estos efectos no fueron consistentes entre años y se limitaron a sólo una fecha de muestreo. La extensión y la reducción en 4 h del fotoperíodo natural causó un aumento (Scarlett, año 2008) (Fig. 2.7b) y una disminución (Q. Ayelén, año 2009) (Fig. 2.7c) del nivel de dormición de los granos, respectivamente. Estos resultados se encuentran en concordancia con los hallados en las gramíneas *Aegilops kotschyii* (Wurzbarger y Koller 1976) y *Cenchrus ciliaris* (Sharif-Zadeh y Murdoch 2000), en especies hortícolas (Guterman 1973; Heide *et al.* 1976), y en malezas (Guterman 1974; Kigel *et al.* 1977, 1979). Sin embargo, Schuurink *et al.* (1992) encontraron que el alargamiento del fotoperíodo de 8 a 16 h durante el llenado disminuyó la dormición de los granos de dos cultivares de cebada cervecera.

No obstante, la magnitud de las diferencias en fotoperíodo medio durante el llenado de granos entre fechas de siembra extremas (i.e., junio vs. octubre) utilizadas en los ensayos de ambiente térmico tratados en este Capítulo fueron sustancialmente menores (ca. 1 h 18 min) a las que provocaron algún tipo de efecto en los ensayos de fotoperíodo (i.e., 4 h). De hecho, en ambos años experimentales, el tratamiento de alargamiento de fotoperíodo en 2 h (Fn +2) no provocó efectos significativos sobre la salida de la dormición, en ninguno de los dos cultivares analizados (Fig. 2.7). Así, puede pensarse que, bajo las condiciones en las que se desarrollaron los ensayos de

ambiente térmico, el fotoperíodo tuvo un efecto prácticamente nulo sobre la dinámica de salida de la dormición y no interfirió en la correcta interpretación de los resultados. Si se considera el rango de fechas de siembra habitualmente utilizado en la producción comercial de cebada cervecera en la Región Pampeana argentina (i.e., fines de mayo-principios de agosto) las diferencias en fotoperíodo medio durante el llenado entre fechas de siembra extremas se reducen aún más (ca. 42 min). De esta forma, el efecto del fotoperíodo en esta región podría considerarse despreciable a los fines del análisis de la dinámica de salida de la dormición en cultivos de esta especie.

En este trabajo se estableció un modelo de regresión lineal para predecir la susceptibilidad a BPC del cultivo para cada variedad de cebada analizada, explorando la posibilidad de utilización de un único Modelo General (Cuadros 2.5 y 2.6). Aunque el uso de esta forma universal haría más fácil el manejo del cultivo y la toma de decisiones para los productores agrícolas, el modelo universal no representó adecuadamente la respuesta de la susceptibilidad a BPC a la temperatura en todos los cultivares de cebada analizados, y entonces su uso debería ser limitado y sólo con fines orientativos (Cuadros 2.5 y 2.6).

Los datos utilizados para generar los modelos predictivos de susceptibilidad a BPC muestran, particularmente para los cultivares Q. Ayelén y Scarlett, cierta carencia de valores en el rango de temperaturas relativamente bajas (i.e., entre 18 y 21°C) (Fig. 2.5). Esto afecta la continuidad de la relación sobre la variable independiente y aumenta el grado de inferencia de los modelos, comprometiéndose la predictibilidad de los mismos en este rango de temperaturas. Sin embargo, si consideramos un año típico, en la mayoría de las zonas de producción de cebada cervecera en Argentina la ventana crítica del llenado coincide con las últimas semanas del mes de noviembre o la primera de diciembre, estando la temperatura media diaria por encima de este rango (i.e., >21°C) o muy cercana a su límite superior (i.e., 21°C), para las fechas de siembra normalmente utilizadas en cada zona.

Atendiendo a estas limitaciones, los hallazgos del presente Capítulo permitirían a los productores de cebada predecir, de una manera simple y a partir de datos de fácil obtención, la susceptibilidad a BPC de sus cultivos. La fecha de antesis puede ser inferida a partir del momento de espigazón, y la temperatura media diaria del aire durante el llenado de granos puede ser obtenida con un termómetro de máxima-mínima instalado en el establecimiento agropecuario o a partir de la estación meteorológica más cercana. Esta información permite calcular el tiempo térmico acumulado (sobre una temperatura base definida para cada cultivar) a partir de antesis, identificando la fecha de comienzo y fin de la ventana de sensibilidad. El valor de temperatura media dentro de la ventana se ingresa al modelo para estimar un valor de $IG_{20-10\%CHG}$. La interpretación de los resultados es muy simple, pudiéndose establecer categorías de susceptibilidad a BPC. Un cultivo con un IG predicho <10 presentaría una muy baja susceptibilidad a brotado (con un IG = 6 serían necesarios al menos 4 días consecutivos de imbibición para alcanzar un 1% de granos brotados, ver ejemplo en la sección de Resultados). Valores de IG entre 10 y 30 indican una susceptibilidad moderada, considerando que recién a los dos días consecutivos de imbibición se observaría un 2% de brotado. Valores de IG entre 30 y 50 significan una alta susceptibilidad a BPC,

estando asociados a que ocurra brotado dentro de las primeras 24 h de imbibición, con lo cual un período de un día lluvioso sería suficiente para alcanzar un 2% de brotado, límite establecido por las bases de comercialización (SAGPyA 2000). Por último, valores de $IG > 50$ implican una susceptibilidad muy alta, pudiéndose alcanzar un 10% de granos brotados a las 24 h de imbibición. La predicción de la susceptibilidad a BPC, junto con el pronóstico meteorológico local para el período cercano a la cosecha, permitiría la estimación del riesgo a brotado al que se vería expuesto el cultivo de cebada. Si se pronostica tiempo lluvioso en un cultivo con alta susceptibilidad a BPC (i.e., alto riesgo de BPC) los productores pueden tomar decisiones de manejo en consecuencia, tales como anticipar la cosecha (i.e., cosechar con un nivel de humedad en grano mayor al recomendado y secar artificialmente) (Strand 1964; Mares 1984; Paulsen y Auld 2004). El daño por brotado puede ser más severo que el predicho si ocurren temperaturas relativamente bajas (ca. 10°C) simultáneamente con tiempo lluvioso en el campo (Mares 1984; Bewley y Black 1994; Benech-Arnold 2004). También, estos modelos pueden resultar de utilidad para los compradores/acopiadores de grano de cebada, como una herramienta para identificar aquellas regiones donde el BPC pudo haber causado daños potenciales.

En el año 2007 se realizó una validación preliminar de los modelos predictivos comparándose, para los tres cultivares más difundidos en Argentina (Quilmes Ayelén, Q. Painé y Scarlett) (SAGPyA 2007), la regresión lineal de los datos de campo contra aquella de los datos experimentales. No se encontraron diferencias significativas en el valor de la pendiente, para ninguna de las variedades (Fig. 2.8 y Cuadro 2.7). Esto confirma la dependencia del IG de la temperatura durante la ventana de sensibilidad, e indica que la respuesta de la susceptibilidad a BPC a la temperatura media se mantuvo en los tres cultivares. Sin embargo, en todos los cultivares validados, la mayoría de los valores de IG observados fueron significativamente mayores a los predichos (i.e., los modelos experimentales subestimaron la susceptibilidad a BPC, la cual fue mucho más alta que la esperada), desplazándose hacia arriba la relación global con la temperatura (Fig. 2.8). En concordancia con los hallazgos reportados por Rodríguez *et al.* (2001), estos resultados muestran que la temperatura experimentada por el cultivo durante la ventana de sensibilidad explica sólo una dimensión de la variabilidad en dormición. En efecto, esta validación sugiere el rol de otros factores ambientales que, en este caso, indujeron niveles de dormición en grano menores a los esperados a partir de los modelos experimentales. Las condiciones ambientales para el desarrollo del cultivo tales como las propiedades del suelo, la disponibilidad de agua y la duración del fotoperíodo fueron diferentes entre ambas áreas de prueba. Debido al tipo de conducción del cultivo (i.e., en seco) y a particularidades climáticas del año 2007 (i.e., año seco), la disponibilidad de agua durante el llenado de granos en todos los sitios de validación fue marcadamente menor (Fig. 2.9). Los valores < 1 de la relación ETR_c/ETP_c estimados en los últimos tres meses del año en estos sitios indican que la oferta de agua proveniente de las precipitaciones y del almacenaje del suelo no llegó a satisfacer la demanda del cultivo, confirmando el estrés hídrico sufrido en las parcelas de validación (Cuadro 2.8). En cambio, en el sitio experimental la relación ETR_c/ETP_c fue cercana a 1 durante todo el llenado, en todos los años (Cuadro 2.8). Una baja

disponibilidad de agua durante el desarrollo de los granos generalmente está asociada a un menor nivel de dormición de las semillas. Este efecto fue encontrado en *Avena fatua* L. (Peters 1982; Sawhney y Naylor 1982) y en *Sorghum bicolor* L. (Benech-Arnold *et al.* 1991). Dicho efecto promotor de la sequía sobre la salida de la dormición podría explicar el desplazamiento hacia arriba de la relación IG-temperatura (Fig. 2.8), y entonces la subestimación de la susceptibilidad a BPC observada durante la validación de los modelos experimentales.

Es conocido que la baja oferta de N aumenta la dormición en ciertos pastos (Watson y Watson 1982). Los altos niveles de nitratos en el suelo promueven la salida de la dormición en otras especies (Fawcett y Slife 1978; Thomas y Raper 1979; Varis y George 1985). Sin embargo, y dada su dirección (i.e., hacia arriba), el corrimiento de la relación IG-temperatura no puede ser explicado por la acción de este nutriente. Además, la oferta de N en el sitio experimental y en las localidades de validación fue similar (datos no mostrados), aunque el estrés hídrico en estas últimas pudo haber afectado la absorción y disponibilidad efectiva de este nutriente para el cultivo.

Por otro lado, la duración del día (i.e., fotoperíodo) fue levemente mayor en los sitios de validación; los días largos pueden promover la dormición en algunas especies (Wurzbarger y Koller 1976), aunque pueden tener el efecto opuesto en otras (Guterman 1973; Somody *et al.* 1984). De todas formas, y según los resultados hallados en este Capítulo con los ensayos de fotoperíodo, las mínimas diferencias en el fotoperíodo medio durante el llenado (ca. 5 min) entre las parcelas de validación y las experimentales hacen improbable que la acción de este factor ambiental se encuentre detrás de la subestimación de la susceptibilidad a BPC.

La similar ubicación de la ventana de sensibilidad a la temperatura dentro del período de llenado de granos en cuatro de los cinco cultivares analizados (Fig. 2.6) sugiere que, en la especie *Hordeum vulgare* L., el patrón de salida de la dormición se encuentra regulado por eventos fisiológicos, sensibles al ambiente, que tienen lugar durante las últimas etapas del desarrollo seminal. Investigaciones llevadas a cabo en varias especies sobre los mecanismos de dormición de semillas en desarrollo dan cuenta de una fuerte participación de los reguladores de crecimiento (Robichaud *et al.* 1980; Walker-Simmons 1987; Benech-Arnold *et al.* 1999, 2000b). El ácido abscísico (ABA, inhibidor de la germinación) y las giberelinas (GAs, promotoras de la germinación) se encuentran entre los compuestos más importantes. En cebada, Benech-Arnold *et al.* (1999) trabajando con los cultivares B1215 (muy susceptible a BPC) y Quilmes Palomar (moderadamente resistente a BPC) encontraron que las diferencias en el comportamiento frente al brotado se debían a la presencia de las cubiertas del grano (lemma + palea) (i.e., el patrón de salida de la dormición de cariopses desnudos no fue diferente entre cultivares). Este comportamiento contrastante se explicó principalmente por diferencias en el contenido de ABA del embrión y, en menor medida, por una diferente sensibilidad del embrión al ABA. Después de madurez fisiológica, los embriones B1215 comenzaron a reducir su contenido de ABA y a perder su sensibilidad al ABA mucho antes que los del cv. Quilmes Palomar. Se sugirió que las cubiertas del grano de cebada limitan el suministro de oxígeno al embrión a partir de la fijación de este gas por la oxidación de compuestos fenólicos, actuando este fenómeno en la

modulación de la dormición de los granos de cebada (Lenoir *et al.* 1986; Benech-Arnold *et al.* 2006). La concentración de oxígeno puede determinar la tasa de catabolización del ABA o de otros inhibidores de la germinación (Neill y Horgan 1987; Barthe *et al.* 2000), y entonces puede afectar el contenido de ABA del embrión y, posiblemente, también su sensibilidad al ABA (Benech-Arnold *et al.* 2006; Mendiando *et al.* 2010).

La temperatura durante el llenado de granos también podría alterar el metabolismo hormonal del embrión y entonces modificar el nivel de dormición de los granos (Fenner 1991). Entonces, en este trabajo, las altas temperaturas durante la ventana de sensibilidad podrían haber reducido el contenido/sensibilidad al ABA del embrión, y/o incrementado el contenido/sensibilidad a las GAs, lo que conduciría a una menor dormición y a una alta susceptibilidad a BPC. Estos cambios pudieron haber estado mediados, al menos parcialmente, por modificaciones de la morfología/fisiología de las cubiertas del grano que disminuyeron la funcionalidad de la “trampa” de oxígeno anteriormente descrita. Adicionalmente, el desplazamiento de la relación IG-temperatura en las pruebas de validación puede haber tenido su origen en la acción de otros factores ambientales (e.gr., sequía, nutrientes, fotoperíodo) que pudieron haber causado un menor nivel de dormición a través de alteraciones en el balance hormonal del grano.

CAPÍTULO 3

EFECTO DE LA DISPONIBILIDAD DE NITRÓGENO Y DE AGUA DURANTE EL LLENADO DE GRANOS SOBRE LA DINÁMICA DE SALIDA DE LA DORMICIÓN EN CULTIVOS DE CEBADA CERVECERA

*Publicado en: **Gualano NA**, Benech-Arnold RL. 2009. The effect of water and nitrogen availability during grain filling on the timing of dormancy release in malting barley crops. *Euphytica* 168:291-301.

3.1. Introducción

En los últimos años, se desarrollaron nuevas herramientas tecnológicas para el manejo de la problemática del brotado pre-cosecha (BPC) en cultivos de cebada. En 2001, Rodríguez *et al.* elaboraron un modelo que permitía predecir la susceptibilidad del cultivo (cv. Quilmes Palomar) a sufrir BPC a partir de la temperatura explorada durante el llenado de granos (ver Capítulo 1). Más recientemente, se generaron modelos similares para un amplio rango de variedades de cebada cervecera comúnmente cultivadas en Argentina (ver Capítulo 2). De esta manera, si se predice una alta susceptibilidad a BPC, y existe pronóstico de lluvias para el período cercano a la cosecha, el productor puede tomar la decisión de adelantar la recolección para evitar daños por brotado en su cultivo. Sin embargo, cuando estos modelos predictivos fueron validados contra datos de campo independientes se constató un completo desplazamiento de la relación global con la temperatura, lo que sugiere que esta variable explica sólo una dimensión de la variabilidad en susceptibilidad a BPC y que otros factores ambientales participan en la determinación de la tasa de salida de la dormición de un cultivo de cebada (Rodríguez *et al.* 2001; Capítulo 2). Las condiciones ambientales para el crecimiento y desarrollo del cultivo tales como las propiedades del suelo y la disponibilidad de agua fueron diferentes entre los sitios experimentales y de validación, en ambos trabajos. Por ejemplo, las parcelas experimentales y las de validación fueron conducidas bajo riego y en seco, respectivamente, lo que pudo provocar que la disponibilidad de agua y de N del suelo haya sido menor en estas últimas. La sequía durante el desarrollo seminal está generalmente asociada con un menor nivel de dormición (Peters 1982; Sawhney y Naylor 1982; Benech-Arnold *et al.* 1991). Dicho efecto promotor de la sequía sobre la salida de la dormición podría estar detrás de la subestimación de la susceptibilidad a BPC observada durante la validación de los modelos en el Capítulo 2. En cambio, Aspinall (1965) encontró que la sequía impuesta durante el llenado de granos incrementaba el nivel de dormición de semillas de cebada. Estos resultados podrían explicar la sobreestimación de la susceptibilidad a BPC a partir del modelo desarrollado en los experimentos de Rodríguez *et al.* (2001). En este caso, el estrés hídrico durante el llenado en las parcelas de validación pudo haber inducido un nivel de dormición mayor que el esperado.

Otro factor que podría explicar los desplazamientos de las relaciones IG-temperatura puede ser la disponibilidad de N del suelo. Los altos niveles de nitratos promueven la salida de la dormición en tomate (*Lycopersicum esculentum* L.) (Varis y George 1985), tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) (Thomas y Raper 1979), festuca alta [*Lolium arundinaceum* L. (Shreb.) Darbysh.] (Watson y Watson 1982) y en quinoa blanca (*Chenopodium album* L.) (Fawcett y Slife 1978). Este hecho también podría explicar el desplazamiento de la relación IG-temperatura hacia abajo (i.e., sobreestimación de la susceptibilidad a BPC) encontrado durante la validación en Rodríguez *et al.* (2001); pero no puede ser utilizado para explicar el desplazamiento hacia arriba hallado en los ensayos del Capítulo anterior.

En este Capítulo se completó el abordaje del objetivo particular 1 enunciado en la Introducción General de esta tesis, que planteaba estudiar el efecto del ambiente

durante el período de llenado de granos sobre la dinámica de salida de la dormición en cultivos de cebada cervecera. Específicamente, aquí se exploraron los efectos de la disponibilidad de agua y de N del suelo durante este período sobre la dinámica de salida de la dormición en un amplio rango de variedades de cebada cervecera comúnmente cultivadas en Argentina.

3.2. Materiales y Métodos

3.2.1. Material vegetal

Se utilizaron los mismos cinco cultivares de cebada cervecera empleados en los experimentos para evaluar el efecto del ambiente térmico durante el llenado de granos sobre la dinámica de salida de la dormición (Quilmes Ayelén, Quilmes Palomar, Quilmes Painé, B1215 y Scarlett) (ver Capítulo 2).

3.2.2. Diseño experimental y tratamientos

Se condujo un experimento durante 2 años consecutivos (2004 y 2005) en el campo experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (FAUBA), localizado en la ciudad de Buenos Aires, Argentina (34°25'S, 58°25'W). En ambas campañas se utilizaron parcelas de 2,7 m², siguiendo un diseño experimental de parcelas divididas (parcela principal: tratamiento de disponibilidad de agua y N del suelo; subparcela: genotipo), con 3 repeticiones. Las fechas de siembra fueron el 19 de Julio de 2004 y el 4 de Agosto de 2005.

A fin de evaluar el efecto de la disponibilidad de agua y de N del suelo sobre la salida de la dormición se aplicaron tratamientos control, y de alta y baja (y sus combinaciones) oferta de estos recursos. Las parcelas control fueron bien regadas durante todo el ciclo del cultivo y se aplicó fertilizante para alcanzar una disponibilidad total de N de 100 kg ha⁻¹. Los tratamientos de alta y baja disponibilidad de N fueron impuestos a través de fertilización con urea hasta obtener un contenido total del suelo (para los primeros 60 cm del perfil) de 180 kgN ha⁻¹ (N₁₈₀) y de 40 kgN ha⁻¹ (N₄₀), respectivamente. El fertilizante se aplicó al momento de 2 hojas completamente expandidas, incorporándolo al suelo junto a la línea de siembra. Las parcelas bajo alta disponibilidad de agua fueron bien provistas de este recurso durante todo el ciclo del cultivo; mientras que en el tratamiento de baja disponibilidad se impuso una sequía terminal desde unos pocos días previos a antesis hasta MC. Esto se logró cubriendo las parcelas principales con una estructura removible de polietileno los días lluviosos. También, se impidió el flujo subsuperficial de agua hacia el interior de las parcelas instalando láminas verticales de polietileno dentro del suelo (hasta una profundidad de 0,80 m) alrededor del perímetro de la parcela principal. El estrés hídrico sufrido por el cultivo durante el llenado de granos fue estimado a partir de la oferta (i.e., precipitaciones y almacenaje del suelo) y demanda de agua para este período, a través

de la relación ETR_c/ETP_c (evapotranspiración mensual real/evapotranspiración mensual potencial del cultivo) calculada según se describe en el Capítulo 2.

En el año 2004 se realizaron tratamientos con todas las combinaciones de ofertas de recursos (agua y N del suelo), mientras que en 2005 el tratamiento sequía-baja disponibilidad de N fue reemplazado por otro en el cual la sequía fue impuesta desde antesis también, pero el cultivo fue regado cuando alcanzó la ventana con sensibilidad a la temperatura para la salida de la dormición (definida en tiempo térmico y localizada hacia las últimas etapas del desarrollo del grano; ver Capítulo 2). En este caso la disponibilidad de N se fijó en un alto nivel (N_{180}). Este tratamiento se realizó con la intención de explorar la posibilidad de que la salida de la dormición fuera sensible, durante la ventana, a otros factores ambientales además de la temperatura (en este caso a la disponibilidad de agua).

3.2.3. Duración del período de llenado de granos

La acumulación de tiempo térmico durante el período entre antesis y MF para cada cultivar de cebada y sus respectivos valores de temperatura base fueron calculados en un trabajo previo y están presentados en el Capítulo 2 de esta tesis.

3.2.4. Dinámica de salida de la dormición

Se condujeron ensayos de germinación para cada tratamiento, en ambos años experimentales. Estos ensayos se realizaron según lo explicado en el Capítulo 2 de esta tesis. Los resultados se analizaron por ANVA.

3.3. Resultados

3.3.1. Patrón de salida de la dormición en las parcelas control

El patrón de salida de la dormición fue visto como la evolución del índice de germinación de granos (IG) a lo largo del desarrollo y maduración seminales. Realizando un promedio entre todos los genotipos de cebada analizados, en 2004 la evolución del IG en las parcelas control siguió un patrón sigmoideal, con valores menores a 20 hasta 36 días post-antesis (DPA) (aproximadamente cuando se alcanza la MF), lo que indica que virtualmente no existe riesgo de brotado antes de MF (Fig. 3.1a). Luego, el IG comenzó a incrementarse rápidamente alcanzando valores cercanos a 70 a los 52 DPA (cerca de MC) (Fig. 3.1a). En 2005, la tasa media (promedio entre todos los cultivares) de salida de la dormición fue mucho mayor que en 2004, adoptando la evolución del IG un patrón asintótico en el cual se alcanzaron valores de IG cercanos a 60 en MF, y un plateau con valores de IG de alrededor de 80 a MC (48-52 DPA) (Fig. 3.1b).

Para cada uno de los años experimentales, no hubo grandes diferencias entre cultivares de cebada en el patrón de evolución del IG en las parcelas control, con la única excepción del genotipo B1215 en 2004 (Fig. 3.2). El genotipo B1215 es un cultivar de cebada altamente susceptible a BPC, y por lo tanto generalmente exhibe una tasa de pérdida de la dormición mucho mayor (particularmente a partir de MF) que la de aquellos cultivares con resistencia intermedia a BPC. Sorpresivamente, este comportamiento diferencial de B1215 frente al BPC no se dio en el año 2005, en el cual todos los cultivares de cebada analizados mostraron una alta tasa de pérdida de la dormición en las parcelas control (Fig. 3.3).

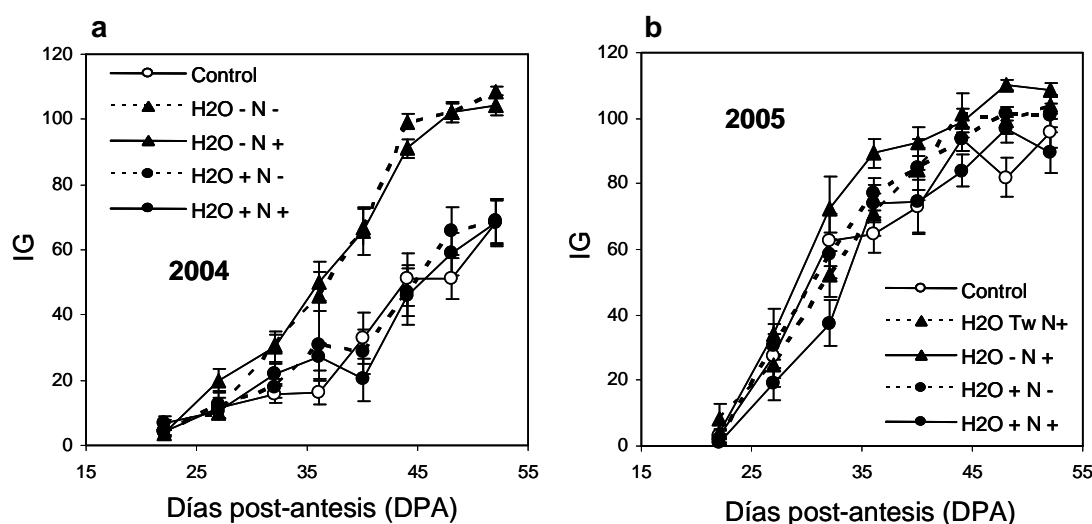


Figura 3.1. Evolución media del índice de germinación (IG) de granos provenientes de parcelas bajo diferentes tratamientos durante el llenado de granos, en los años experimentales 2004 (a) y 2005 (b). Los tratamientos fueron: parcelas control, y baja (-) o alta (+) disponibilidad de agua y N en el suelo (y sus combinaciones). En 2005 el tratamiento H₂O- N- fue reemplazado por otro (H₂O_{Tw} N+) en el cual también se impuso sequía desde antesis, pero luego fue regado durante la ventana con sensibilidad a la temperatura (ver Capítulo 2). Cada valor es el promedio de tres repeticiones. Las barras verticales indican el error estándar (SE) cuando son más grandes que el símbolo.

3.3.2. Efecto de la disponibilidad de N del suelo sobre la salida de la dormición

En ambos años experimentales, la salida de la dormición no fue afectada por la disponibilidad de N del suelo dado que el patrón medio (promedio entre todos los genotipos de cebada analizados) para los tratamientos N₁₈₀ y N₄₀ no difirió significativamente, para ninguno de los tratamientos de disponibilidad hídrica (Fig. 3.1a, b). Tampoco se encontraron efectos de la disponibilidad de N cuando cada cultivar fue considerado individualmente (Figs. 3.2 y 3.3).

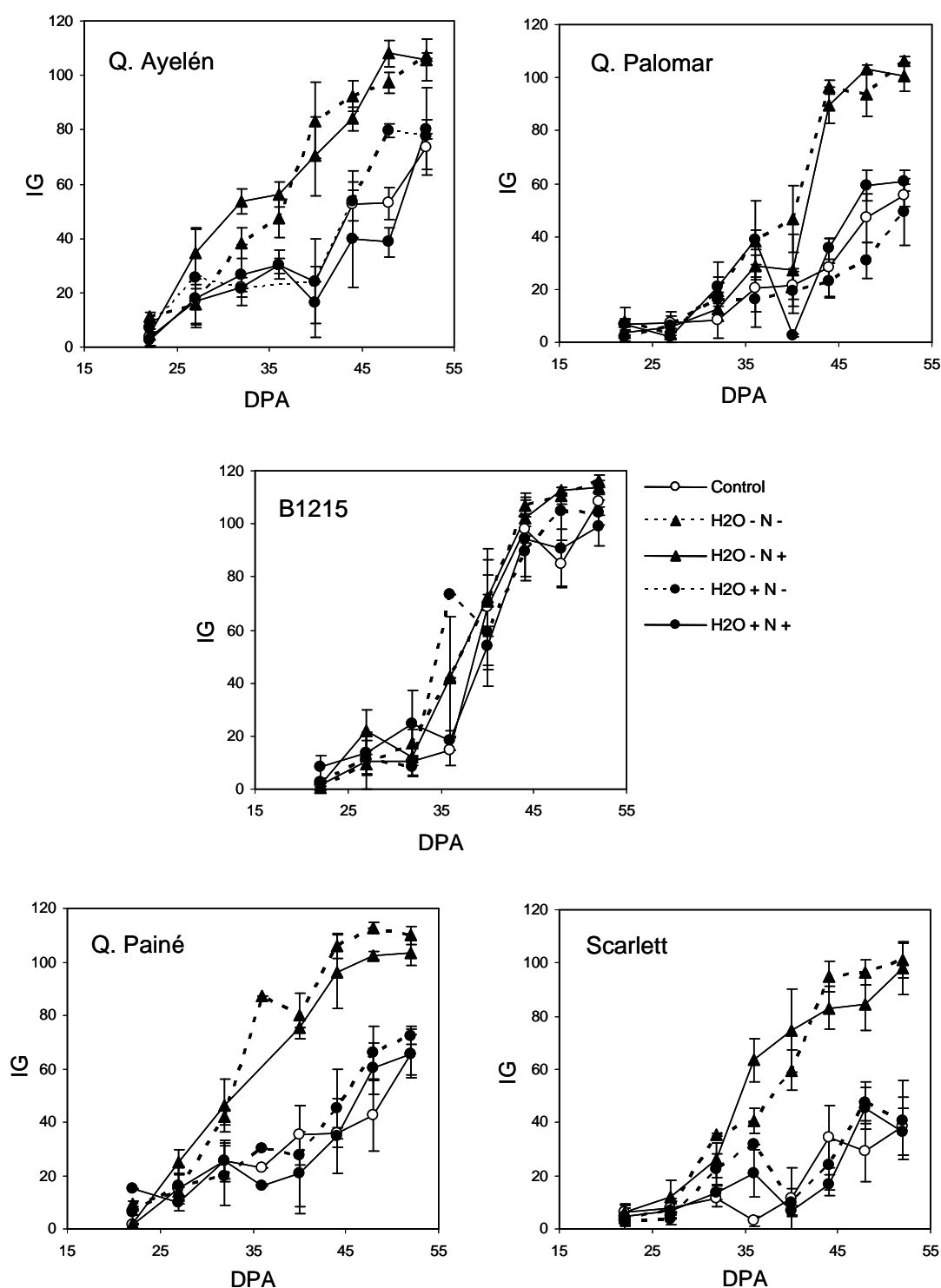


Figura 3.2. Evolución del índice de germinación (IG) de granos de cada cultivar de cebada en el año 2004. Los tratamientos fueron ídem Fig. 3.1. Cada valor es el promedio de tres repeticiones. Las barras verticales indican el error estándar (SE) cuando son más grandes que el símbolo.

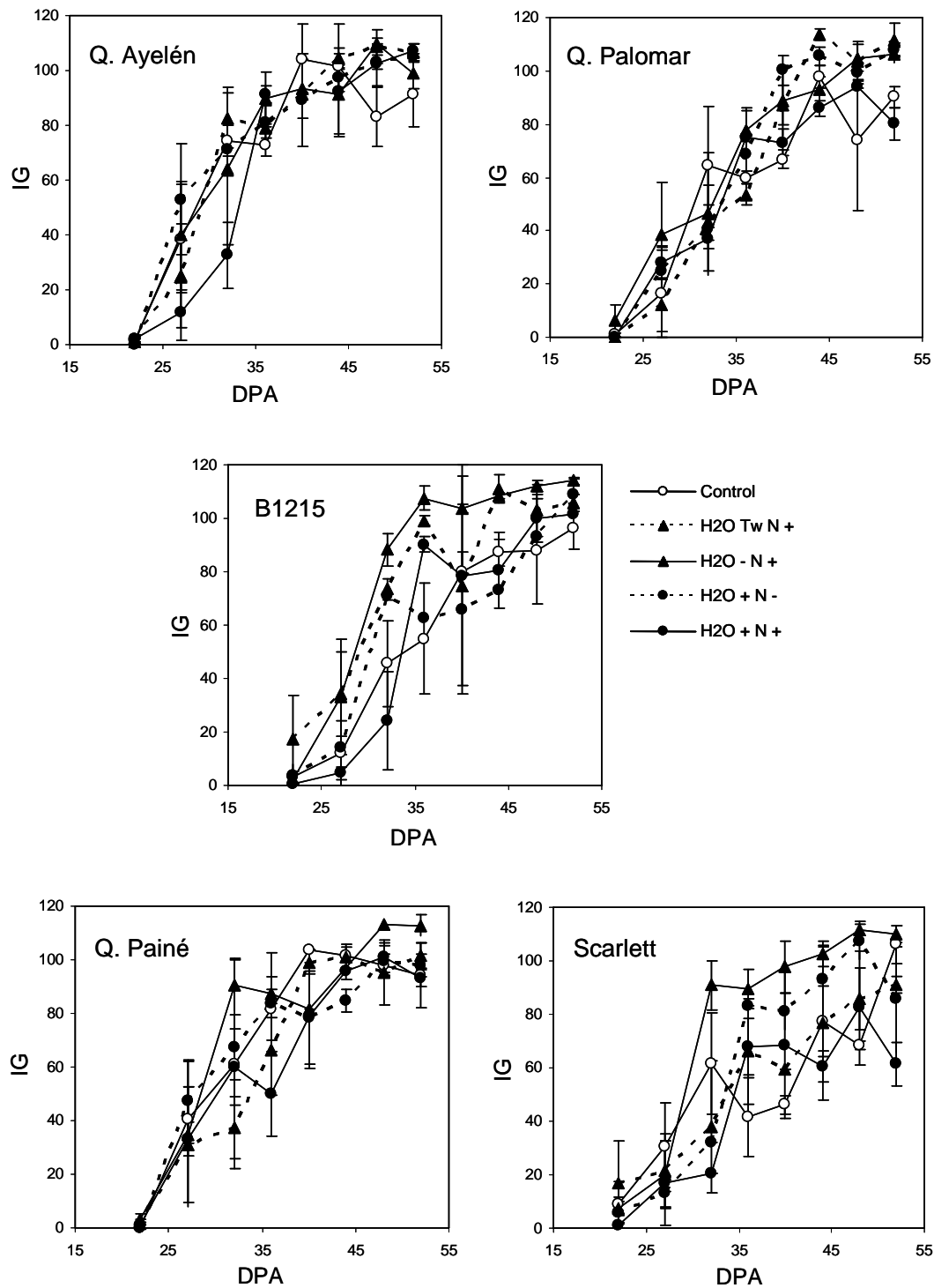


Figura 3.3. Evolución del índice de germinación (IG) de granos de cada cultivar de cebada en el año 2005. Los tratamientos fueron ídem Fig. 3.1. Cada valor es el promedio de tres repeticiones. Las barras verticales indican el error estándar (SE) cuando son más grandes que el símbolo.

3.3.3. Efecto de la disponibilidad de agua durante el llenado de granos sobre la salida de la dormición

En el año 2004, la sequía impuesta durante el llenado de granos afectó significativa ($p < 0,05$) y positivamente la salida de la dormición; independientemente de la disponibilidad de N del suelo y del cultivar de cebada (el cv. B1215 –altamente susceptible a BPC- fue la única excepción) (Figs. 3.1a y 3.2). En cambio, en 2005 no se encontró este efecto promotor de la sequía sobre la salida de la dormición (i.e., los granos provenientes de parcelas bajo sequía y riego presentaron similares valores de IG) (Figs. 3.1b y 3.3), a pesar de que la severidad del estrés hídrico fue equivalente entre años (ver más abajo). En ambos años experimentales, el patrón medio de salida de la dormición en parcelas bajo sequía fue similar (Fig. 3.1a,b: media a través de todos los genotipos; Fig. 3.4: excluyendo el cv. B1215), presentando una alta tasa de pérdida de la dormición; sin embargo, se encontraron diferencias significativas entre años en las parcelas control y bajo riego (Figs. 3.1a,b y 3.4). En 2005, los granos de las parcelas irrigadas mostraron una tasa de salida de la dormición inesperadamente alta (similar a la hallada bajo sequía), mientras que en 2004, a partir de MF, los granos de estas parcelas presentaron valores de IG ca. 40 puntos menores a los observados en las parcelas bajo sequía (Figs. 3.1a,b y 3.4). El efecto medio de la sequía sobre la salida de la dormición puede ser fácilmente visualizado relacionando el IG (media a través de todas las variedades analizadas, excepto B1215) de los granos de parcelas bajo sequía con el IG de los provenientes de parcelas irrigadas (i.e., relación IG sequía/IG irrigado), para cada fecha de muestreo y año experimental (Fig. 3.5). Cuando el valor de esta relación es cercano a 1 esto significa que los valores de IG de los granos de las parcelas bajo sequía e irrigadas no difieren significativamente (i.e., no existe un efecto de la sequía sobre la salida de la dormición); si la relación es < 1 esto indica que la sequía reduce el IG en comparación con una condición de adecuada oferta de agua (i.e., la sequía tiene un efecto negativo sobre la tasa de pérdida de la dormición); y cuando la relación es > 1 esto significa que existe un efecto promotor de la sequía sobre la salida de la dormición. Cuando se comparó la relación IG sequía/IG irrigado media a lo largo del desarrollo y maduración de las semillas para ambos años experimentales se encontró, hasta MF, una mayor relación en 2005 que en 2004 (con valores > 1) (Fig. 3.5). Inversamente, a partir de MF, esta relación permaneció cercana a 1 en 2005 mientras que en 2004 el IG en las parcelas bajo sequía fue hasta 5 veces mayor que en las irrigadas (Fig. 3.5).

Para todas las variedades de cebada analizadas (excepto B1215), el mayor efecto de la sequía durante el período de llenado de granos sobre la salida de la dormición se evidenció alrededor de los 40 DPA (unos pocos días después de MF), como lo indica el hecho de que la relación IG sequía/IG irrigado registra su valor más alto en esta etapa (Fig. 3.6). En este momento el grano todavía está en el campo (i.e., fase de secado de granos) y, bajo condiciones de estrés hídrico durante el llenado de granos, el nivel de dormición desarrollado en las semillas será lo suficientemente bajo como para que ocurra daño por brotado si tienen lugar lluvias y/o condiciones de alta humedad. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre cultivares de cebada en la respuesta del IG a la sequía en esta etapa de desarrollo. La variedad más sensible a la

sequía fue Scarlett, seguida por Q. Palomar, Q. Ayelén, Q. Painé y B1215, en orden decreciente (Fig. 3.6). A pesar de estas diferencias, el ranking genotípico de susceptibilidad a BPC prácticamente no cambió bajo condiciones de sequía (Fig. 3.7). Los genotipos con alta susceptibilidad a BPC son aquellos con una alta tasa de salida de la dormición. Como se esperaba, el cultivar más susceptible fue B1215, seguido por Q. Ayelén, Q. Painé, Q. Palomar y Scarlett, en orden decreciente de susceptibilidad a BPC (Fig. 3.7a). Bajo sequía, hubo algún cambio en el ranking genotípico: Scarlett pareció exhibir una tasa de salida de la dormición mayor que Q. Palomar (Fig. 3.7b).

En 2005, el tratamiento bajo sequía desde anthesis en adelante, pero irrigado durante la ventana con sensibilidad a la temperatura para la dormición del grano (ver Capítulo 2), no produjo un patrón de salida de la dormición significativamente diferente con respecto al generado por el tratamiento bajo sequía durante todo el período de llenado de granos (Fig. 3.1b).

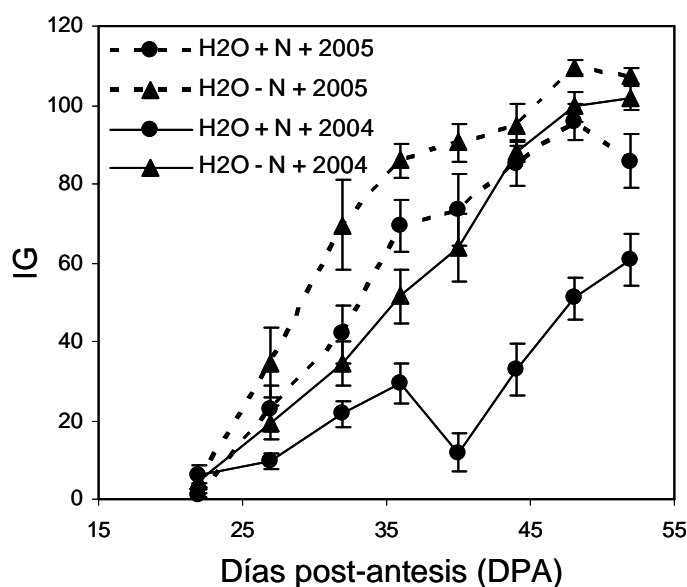


Figura 3.4. Evolución media (excepto B1215) del índice de germinación (IG) de granos cosechados de parcelas con alta (+) o baja (-) disponibilidad de agua y alta (+) disponibilidad de N durante el llenado de granos, en los años 2004 y 2005. Cada valor es el promedio de tres repeticiones. Las barras verticales indican el error estándar (SE) cuando son más grandes que el símbolo.

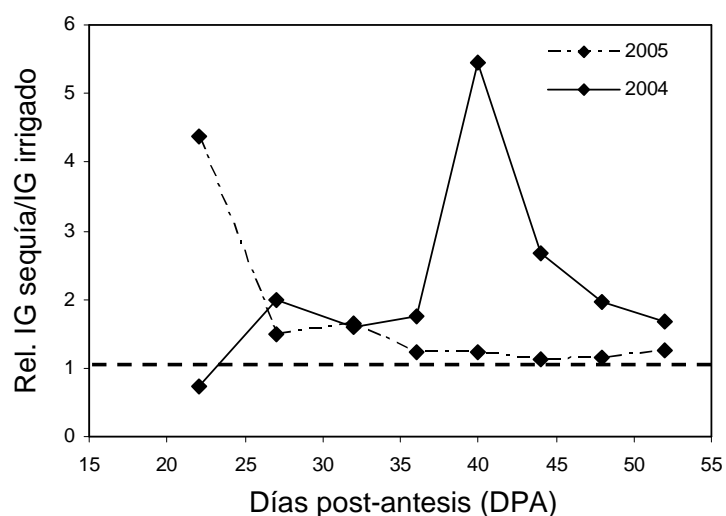


Figura 3.5. Relación entre el índice de germinación (IG) medio en parcelas bajo sequía y el IG medio en parcelas irrigadas (tratamiento de alta disponibilidad de N) para diferentes momentos después de antesis, en 2004 y 2005. La línea discontinua indica una relación IG sequía/IG irrigado igual a 1, indicando que no existe un efecto de la sequía sobre la salida de la dormición.

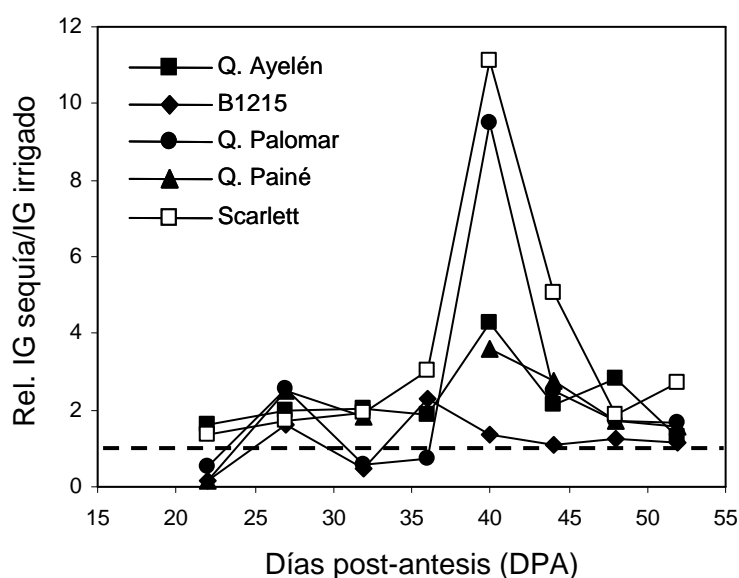


Figura 3.6. Relación entre el índice de germinación (IG) en parcelas bajo sequía y el IG en parcelas irrigadas (tratamiento de alta disponibilidad de N) de granos de cada cultivar de cebada para diferentes momentos después de antesis, en 2004 y 2005. La línea discontinua indica una relación IG sequía/IG irrigado igual a 1, indicando que no existe un efecto de la sequía sobre la salida de la dormición.

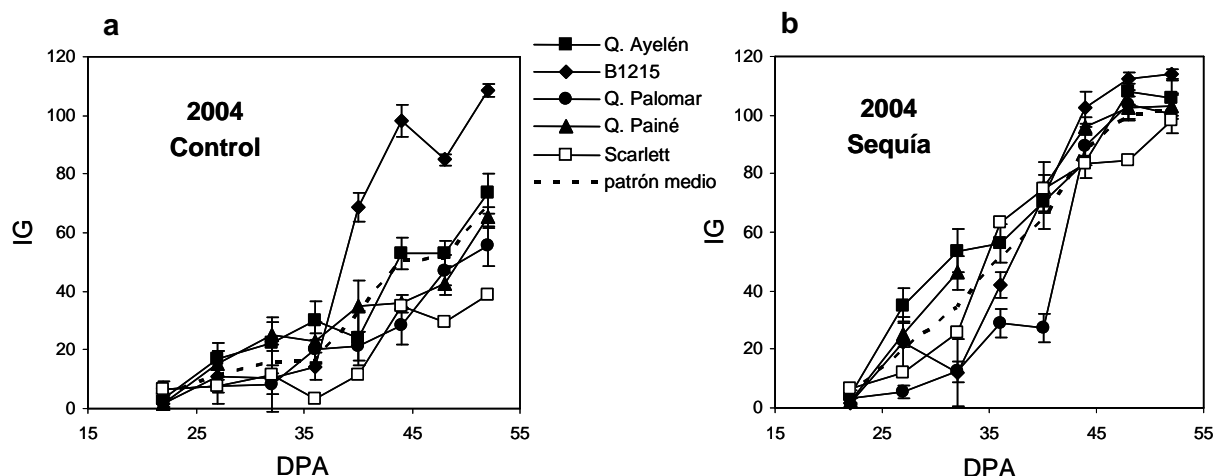


Figura 3.7. Evolución del índice de germinación (IG) de granos de cada cultivar de cebada provenientes de parcelas control (a) y bajo sequía (b), en el año 2004. La línea discontinua representa el patrón medio de salida de la dormición para cada situación, promediado entre todos los genotipos de cebada analizados. Cada valor es el promedio de tres repeticiones. Las barras verticales indican el error estándar (SE) cuando son más grandes que el símbolo.

3.3.4. Estrés hídrico y ambiente térmico durante el llenado de granos

La severidad del estrés hídrico sufrido por el cultivo durante el llenado fue estimada a través de la relación entre la evapotranspiración real y potencial del cultivo. En el Cuadro 3.1 se muestran los valores de esta relación en las parcelas irrigadas y bajo sequía durante el período de llenado para los años 2004 y 2005, no observándose diferencias significativas en la intensidad del estrés hídrico entre años experimentales.

En 2004, la temperatura media del aire durante el período de llenado de granos tomó valores, dependiendo de la variedad de cebada, de entre 18,3 y 18,7°C. Estos valores fueron ligeramente superiores en 2005, entre 18,7 y 20,4°C. Entonces, hubo pequeñas diferencias entre años en la temperatura media durante todo el llenado de granos para cada cultivar de cebada (Cuadro 3.2). Sin embargo, se encontraron diferencias significativas ($p < 0,01$) entre años experimentales en la temperatura durante la ventana de sensibilidad para la salida de la dormición definida para cada cultivar (ver Capítulo 2) (Cuadro 3.2). Para todos los cultivares de cebada, la temperatura media del aire durante esta ventana fue mucho mayor (6°C en promedio) en 2005 con respecto a 2004 (Cuadro 3.2 y Fig. 3.8). Considerando que esta temperatura se encuentra directamente relacionada con la tasa de pérdida de dormición (ver Capítulo 2), esto pudo haber resultado en que los granos provenientes de parcelas bajo riego presentaran, a aproximadamente mitad de camino entre MF y MC, valores de IG mucho mayores (160% en promedio) en 2005 que en 2004 (Cuadro 3.2 y Fig. 3.8).

Cuadro 3.1. Evapotranspiración mensual potencial (ETPc) y real (ETRc) del cultivo de cebada, y la relación entre ambas (ETRc/ETPc), en las parcelas irrigadas y bajo sequía para los últimos tres meses de ambos años experimentales. La ETPc fue estimada por la metodología de Turc (1961), y la ETRc a partir de las precipitaciones de cada año particular y el almacenaje de agua en el suelo (ver Capítulo 2).

Año y tratamiento		OCT	NOV	DIC
Buenos Aires 2004 (irrigado)	ETPc (mm)	102,0	135,3	107,4
	ETRc (mm)	102,0	135,3	107,4
	ETRc/ETPc	1,00	1,00	1,00
Buenos Aires 2004 (sequía)	ETPc (mm)	102,0	135,3	107,4
	ETRc (mm)	102,0	48,0	0,0
	ETRc/ETPc	1,00	0,36	0,00
Buenos Aires 2005 (irrigado)	ETPc (mm)	101,1	143,0	105,6
	ETRc (mm)	101,1	143,0	105,6
	ETRc/ETPc	1,00	1,00	1,00
Buenos Aires 2005 (sequía)	ETPc (mm)	101,1	143,0	105,6
	ETRc (mm)	101,1	48,9	0,0
	ETRc/ETPc	1,00	0,34	0,00

Tomando como base el modelo general (i.e., desarrollado con datos de parcelas irrigadas de todos los cultivares de cebada, excepto B1215) para predecir susceptibilidad a BPC a partir de la temperatura media en una ventana de sensibilidad (ver Capítulo 2) puede analizarse cómo se relacionan con el mismo los datos de $IG_{20-10\%CHG}$ de parcelas bajo sequía durante el llenado tratados en este Capítulo. En la Fig. 3.8 puede observarse claramente que, en el año 2004, los valores de IG bajo sequía de cada cultivar fueron muy superiores a sus respectivos controles y se alejaron de la relación IG-temperatura establecida por el modelo general, evidenciándose así un notable efecto promotor de la sequía durante el llenado sobre la salida de la dormición. En cambio, en 2005 no se comprobó este efecto. En este año las altas temperaturas (21-24°C) durante la ventana de sensibilidad provocaron altos valores de $IG_{20-10\%CHG}$ en las parcelas control, no siendo significativamente diferentes ($p>0,21$) de aquellos de las parcelas bajo sequía (Fig. 3.8). Esto pone en evidencia una clara interacción ($p=0,0065$) entre la temperatura en la ventana de sensibilidad y la disponibilidad hídrica durante el llenado en su efecto sobre la susceptibilidad a BPC del cultivo de cebada. De esta forma, los datos generados bajo sequía en 2005 parecen incorporarse a la relación global IG-temperatura del modelo general. De hecho, si estos datos se incluyen en la regresión lineal del modelo los parámetros, pendiente y ordenada al origen, de la ecuación resultante no difieren significativamente ($p>0,96$ y $p>0,53$, respectivamente) de aquellos del modelo original. Entonces, bajo condiciones de altas temperaturas durante la ventana de sensibilidad (ca. 22°C), la baja disponibilidad hídrica durante el llenado de granos parecería no modificar la dinámica de salida de la dormición con respecto a una situación de adecuada oferta de agua.

Asimismo, si se realiza un análisis de regresión lineal con los datos de $IG_{20-10\%CHG}$ bajo sequía de los años 2004 y 2005 la pendiente de la ecuación resultante no difiere significativamente de cero ($p>0,60$), lo que indicaría la ausencia de relación entre el $IG_{20-10\%CHG}$ y la T_m en la ventana de sensibilidad bajo condiciones de estrés hídrico severo durante el llenado de granos (Fig. 3.8).

Cuadro 3.2. Ventana con sensibilidad a la temperatura (ver Capítulo 2) definida en tiempo térmico desde anátesis; temperatura media del aire durante esta ventana (promedio de los tratamientos irrigados con ambas disponibilidades de N); e IG de granos entre MF y MC predichos a partir de los modelos desarrollados previamente (Capítulo 2), para los años experimentales 2004 y 2005. Se muestran las diferencias entre años en la temperatura media durante la ventana de sensibilidad y durante todo el período de llenado de granos, para cada cultivar de cebada.

Cultivar	Ventana de sensibilidad (°Cd)	Temperatura media durante la ventana de sensibilidad (°C)		IG predicho entre MF y MC		Diferencia en la temp. media entre los años 2005 vs. 2004 (°C)	
		2004	2005	2004	2005	Ventana de sensibilidad	Todo el llenado de granos
Q. Ayelén	275-325	16,3	23,2	14,06	75,68	+ 6,8	+ 0,3
B1215	325-375	18,4	24,1	71,43	85,57	+ 5,7	+ 1,1
Q. Palomar	300-350	17,3	23,4	31,83	66,11	+ 6,1	+ 0,4
Q. Painé	275-325	17,4	23,1	39,93	79,77	+ 5,7	0,0
Scarlett	250-300	17,5	24,4	25,15	59,79	+ 6,9	+ 2,1

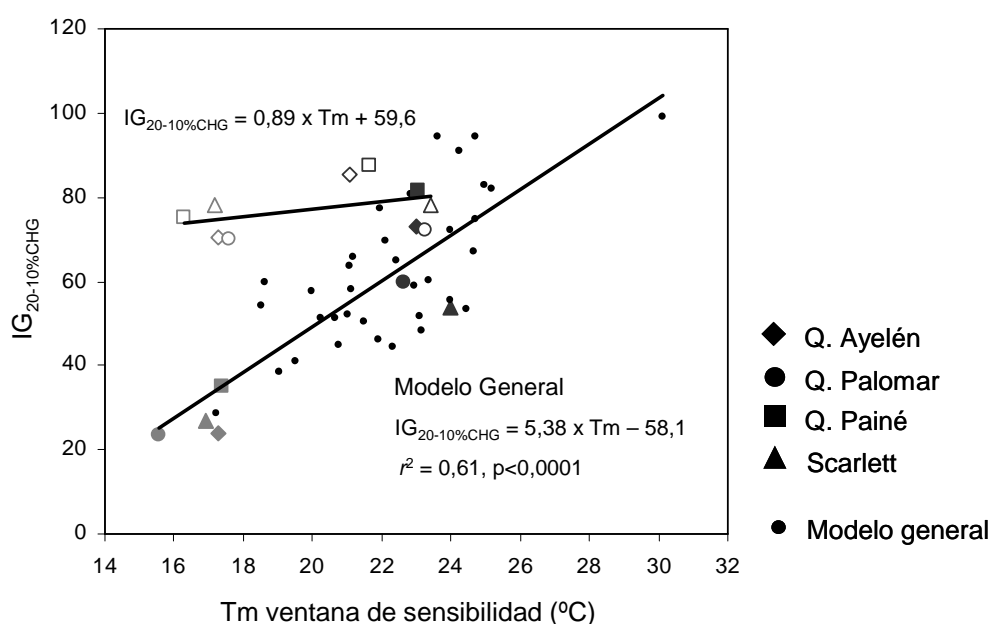


Figura 3.8. Modelo general de la relación entre el IG_{20-10%CHG} y la temperatura durante la ventana de sensibilidad (Capítulo 2), incluyendo datos de todos los cultivares analizados (excepto B1215). Los puntos destacados corresponden a los valores de IG para las diferentes variedades de cebada bajo tratamiento de sequía durante el llenado de granos (H₂O- N+, símbolos vacíos) y sus respectivos controles bien regados (símbolos llenos), en los años experimentales 2004 (símbolos gris claro) y 2005 (símbolos gris oscuro). Nótese la ausencia de efecto de la sequía sobre el IG cuando los valores de temperatura son altos (año 2005). Bajo condiciones de sequía terminal la pendiente de la regresión lineal de los datos de IG vs. Tm en la ventana de sensibilidad no es significativamente diferente de cero ($p > 0,60$), indicando que no existe una relación estadísticamente significativa entre estas variables bajo condiciones de baja disponibilidad hídrica durante el llenado. Nota: se excluyeron las barras de error en el eje Y para una mejor visualización del gráfico.

3.4. Discusión

La sequía durante el llenado de granos incrementó significativamente ($p < 0,05$) la tasa de salida de la dormición a partir de madurez fisiológica, en un amplio rango de cultivares de cebada cervecera con resistencia intermedia a BPC (Figs. 3.1a y 3.2). Efectos similares fueron reportados en *Avena fatua* L. (Peters 1982; Sawhney y Naylor 1982) y en *Sorghum bicolor* L. (Benech-Arnold *et al.* 1991). En años con lluvias por debajo del promedio durante el llenado de granos, o en ambientes de sequía terminal para cereales de invierno, este hecho puede hacer que un cultivar de cebada moderadamente resistente a BPC se comporte como susceptible, exponiendo al cultivo a un alto riesgo de daño por pre-germinado/brotado si algún evento de lluvia tiene lugar (Benech-Arnold 2001). En discrepancia con estos resultados, Aspinall (1965) encontró que la sequía impuesta durante el llenado de granos aumentó la dormición en semillas de cebada.

Aunque se han reportado efectos de la oferta de N sobre el nivel de dormición en pastos (Watson y Watson 1982) y otras especies (Fawcett y Slife 1978; Thomas y Raper 1979; Varis y George 1985), en el presente estudio la disponibilidad nitrogenada del suelo no afectó la salida de la dormición, bajo ninguna condición hídrica durante el llenado de granos (Figs. 3.1a,b, 3.2 y 3.3).

En el Capítulo 2 de esta tesis se desarrollaron modelos que predicen la susceptibilidad a BPC de un cultivo de cebada cervecera a partir de la temperatura durante el llenado de granos. Para varios cultivares comerciales se establecieron relaciones robustas y positivas entre el IG de granos a mitad de camino entre MF y MC y la temperatura media del aire durante una estrecha ventana definida en tiempo térmico y localizada hacia las últimas etapas del llenado. Cuando estos modelos fueron validados contra datos de campo independientes se encontró que la mayoría de los valores de IG observados eran mayores a los predichos (los modelos subestimaron la susceptibilidad a BPC del cultivo). Sin embargo, se conservaron las pendientes de la relaciones IG-temperatura. Estos resultados indicaron que la temperatura explica sólo una dimensión de la variabilidad en dormición, y sugieren el papel de otros factores ambientales en la modulación de la tasa de salida de la dormición de cultivos de cebada. Las condiciones ambientales para el crecimiento y el desarrollo del cultivo fueron diferentes entre el sitio experimental y las localidades de validación. La disponibilidad de agua, particularmente durante el llenado de granos, fue mucho menor en las parcelas de validación. A causa de ello, la disponibilidad efectiva de N entre ambientes probablemente fue diferente también. En el presente estudio no se encontraron efectos significativos de la disponibilidad de N del suelo sobre el patrón de salida de la dormición de un cultivo de cebada (Fig. 3.1a,b). Sin embargo, y dado que las temperaturas durante la ventana de sensibilidad en las parcelas de validación fueron moderadas (ver más abajo), el efecto promotor de la sequía sobre la salida de la dormición revelado en este Capítulo (Figs. 3.1a y 3.2) podría estar detrás de la subestimación de la susceptibilidad a BPC encontrada durante la validación de los modelos experimentales desarrollados previamente (Capítulo 2).

Al igual que se encontró en el Capítulo 2, la sensibilidad de la dormición de la semilla de cebada a la disponibilidad de agua para el cultivo podría estar limitada a una etapa particular dentro del desarrollo seminal más que al período entero de llenado de granos. Se exploró esta posibilidad con parcelas bajo tratamiento de sequía impuesto desde antes, irrigándolas luego hacia el final del llenado de granos [durante la ventana con sensibilidad a la temperatura para la dormición del grano determinada previamente (Capítulo 2)]: el patrón de salida de la dormición de los granos provenientes de estas parcelas no fue significativamente diferente del de aquellos granos de parcelas bajo sequía durante todo el período de llenado de granos (Figs. 3.1b y 3.3). Sin embargo, y dado que en el año durante el cual se condujeron estos experimentos (2005) tampoco hubo diferencias significativas entre los tratamientos de sequía (todo el llenado de granos) y bajo riego, no se puede descartar la posibilidad de que la sensibilidad a la disponibilidad hídrica se limite a una ventana de tiempo más acotada dentro del desarrollo seminal (como en el caso de la temperatura) más que a todo el período de llenado de granos.

El efecto de la sequía sobre la tasa de pérdida de la dormición parece depender del año, dado que la sequía afectó la salida de la dormición en 2004 pero no lo hizo en 2005 (Figs. 3.4 y 3.5). La intensidad del estrés hídrico durante el llenado de granos fue similar en ambos años (Cuadro 3.1). En cambio, se hallaron diferencias significativas ($p < 0,01$) entre años en los regímenes de temperatura durante la ventana de sensibilidad para la salida de la dormición (*sensu* Capítulo 2) definida para cada cultivar. Para todas las variedades de cebada analizadas, la temperatura media del aire durante esa ventana fue mucho mayor (6°C en promedio) en 2005 que en 2004 (Cuadro 3.2). De acuerdo con los modelos desarrollados previamente (Capítulo 2), un incremento de la temperatura durante la ventana de sensibilidad de esta naturaleza implicaría un aumento de alrededor del 160% (promedio) en el IG de granos a mitad de camino entre MF y MC (Cuadro 3.2), determinando un comportamiento de alta susceptibilidad frente al brotado en todos los cultivares. En otras palabras, estas temperaturas significativamente más altas pueden haber incrementado la tasa de pérdida de la dormición hasta su máximo, enmascarando los efectos de la sequía y haciendo que la salida de la dormición sea insensible e independiente de la disponibilidad de agua. De hecho, en 2005 todos los cultivares de cebada, e independientemente del tratamiento de disponibilidad hídrica, exhibieron un patrón de salida de la dormición similar al del cultivar B1215, el cual es considerado altamente susceptible a BPC debido a una muy rápida salida de la dormición (Fig. 3.3). Entonces, la influencia del ambiente térmico durante el llenado de granos sobre la salida de la dormición podría explicar las diferencias entre años en el efecto de la sequía.

En conclusión, la temperatura durante la ventana de sensibilidad (*sensu* Capítulo 2) y la disponibilidad hídrica durante el llenado interactúan en su efecto sobre la velocidad de salida de la dormición de cultivos de cebada cervecera (Fig. 3.9). Es decir, el efecto de la disponibilidad de agua durante el llenado depende de las condiciones térmicas durante la ventana de sensibilidad, y viceversa. Ante condiciones extremas de estos factores (i.e., altas temperaturas o estrés hídrico severo) la interacción entre los mismos se reduce o desaparece (Fig. 3.9). Bajo condiciones cálidas durante la ventana de sensibilidad (temperatura $> 22^{\circ}\text{C}$, e.gr. año 2005) la disponibilidad hídrica durante el llenado no afecta significativamente el patrón de salida de la dormición, el que se encuentra principalmente determinado por la temperatura durante dicha ventana. En cambio, bajo condiciones de temperaturas intermedias o bajas durante la ventana de sensibilidad (e.gr., año 2004) el efecto de la disponibilidad de agua también debería considerarse. Asimismo, bajo condiciones de sequía extrema durante el llenado de granos (como la evaluada en ambos años experimentales) la tasa de pérdida de la dormición será alta y virtualmente independiente de la temperatura durante la ventana de sensibilidad.

Sin embargo, en muchas regiones productoras de cebada del mundo (incluyendo la Región Pampeana argentina) generalmente ocurren estreses hídricos moderados de variable intensidad durante el llenado de los granos. Bajo condiciones intermedias de temperatura durante la ventana de sensibilidad y de disponibilidad hídrica durante el llenado deberían considerarse los efectos de ambos factores sobre la dinámica de salida de la dormición. Entonces, se haría necesario establecer una relación

cuantitativa entre la disponibilidad de agua durante el llenado de granos y la tasa de salida de la dormición en cultivos de cebada cervecera. Esta información, junto con los conocimientos previos acerca de la modulación de la salida de la dormición por el ambiente térmico durante el llenado de granos, permitiría mejorar la predicción de la susceptibilidad a BPC de un cultivo de cebada en años/ambientes con clima templado y lluvioso.

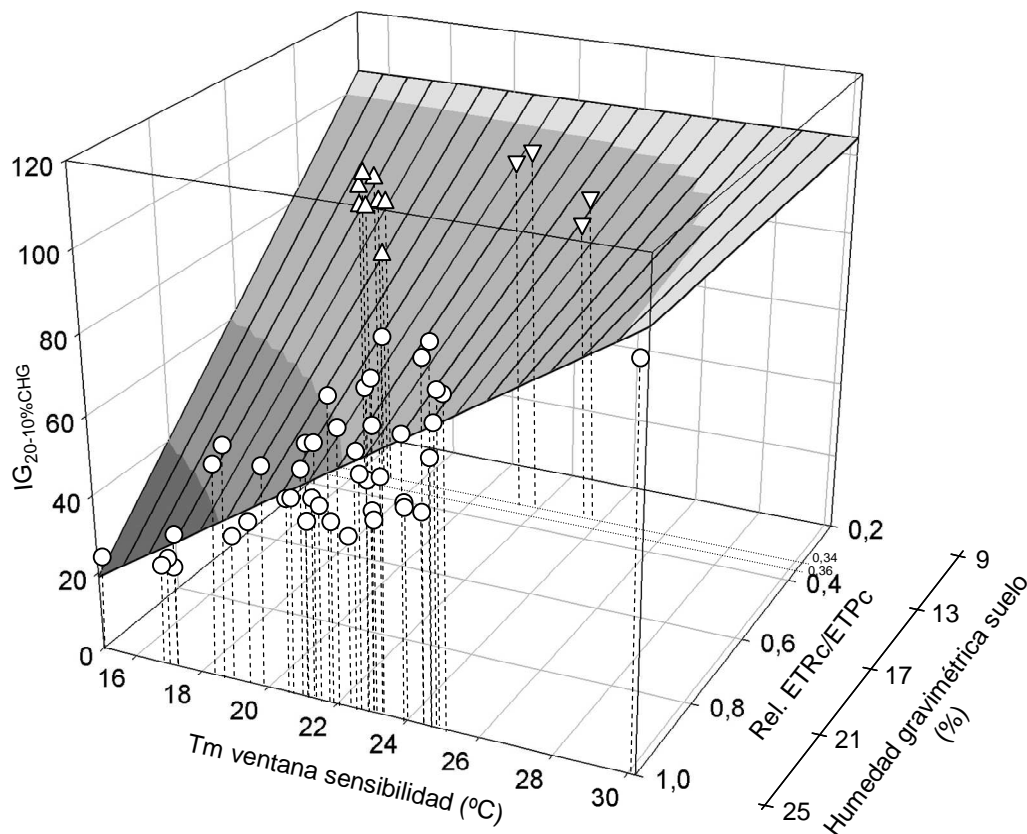


Figura 3.9. Modelo conceptual del efecto combinado de la temperatura durante la ventana de sensibilidad (*sensu* Capítulo 2) y del estrés hídrico durante el llenado sobre la dinámica de salida de la dormición en cultivos de cebada cervecera. Se superponen los datos de las parcelas irrigadas utilizados para desarrollar el modelo general para predecir la susceptibilidad a BPC (Capítulo 2; círculos), y los datos de los ensayos de baja disponibilidad hídrica realizados en los años 2004 (tratamientos H_2O-N+ y H_2O-N- ; triángulos comunes) y 2005 (tratamiento H_2O-N+ ; triángulos invertidos).

CAPÍTULO 4

PREDICCIÓN DE LA VIABILIDAD DE LOTES DE CEBADA CERVECERA CON DAÑO POR PRE-GERMINADO DURANTE EL ALMACENAMIENTO INDUSTRIAL

*Publicado en: **Gualano NA**, Del Fueyo PA, Benech-Arnold RL. Using the Viability Equation to predict storability of malting barley (*Hordeum vulgare* L.) grain lots with different pre-germination damage at malting industry. En preparación.

4.1. Introducción

El mantenimiento de una alta capacidad germinativa de los lotes de cebada cervecera durante el período de almacenamiento resulta fundamental para un malteado eficiente. Como en otras especies vegetales ortodoxas, en cebada la evolución de la viabilidad de un lote de granos durante el almacenaje se haya descripta por la Ecuación de Viabilidad desarrollada por Ellis y Roberts (1981). En esta ecuación todos los parámetros/constantes son medianamente fáciles de medir o conocer, excepto la longevidad potencial (K_i). Este parámetro es propio de cada lote, ya que depende del genotipo (cultivar) y de las condiciones ambientales experimentadas durante el llenado, maduración y acondicionamiento de los granos. Su determinación no es sencilla (i.e., requiere tiempo y trabajo de laboratorio), lo que dificulta la aplicación de la Ecuación de Viabilidad por parte de la industria maltera para el manejo pos-cosecha de los granos (Del Fueyo *et al.* 1999).

El pre-germinado a campo de los granos es uno de los principales factores que afecta la K_i de un lote de cebada, disminuyendo su valor (Del Fueyo *et al.* 1999). Bason *et al.* (1993) señalaron una reducción de la almacenabilidad (cuantificada como el tiempo de almacenaje hasta que la viabilidad cae al 95%) en lotes de cebada con diferente nivel de daño por esta adversidad. Durante el pre-germinado se dispara el crecimiento del embrión, produciéndose una degradación parcial del endosperma almidonoso a cargo de la enzima alfa-amilasa. A causa de esta degradación, la masa preparada con harina de un lote pre-germinado presenta una menor resistencia, disminuyendo el tiempo que emplea el émbolo en atravesarla en el análisis de Hagberg Falling Number (FN) (i.e., se reduce el valor de FN). Este análisis de calidad es realizado rutinariamente por las malterías al recibo de los granos, y su valor constituye un indicador global de la calidad de un lote de cebada. A la luz de estos conocimientos Del Fueyo y colaboradores (1999) relacionaron el valor de FN y la longevidad potencial (K_i) de lotes de cebada (cv. Quilmes Palomar), hallándose una estrecha relación positiva (ver Capítulo 1). Este hallazgo permitió simplificar la estimación de la K_i de un lote de granos de cebada de ese cultivar, haciendo accesible el uso de la Ecuación de Viabilidad para el manejo pos-cosecha de granos a escala industrial.

De la misma forma, encontrar relaciones similares en los cultivares de cebada más difundidos actualmente en Argentina facilitaría la predicción de la viabilidad de lotes de esos cultivares durante su almacenamiento comercial. Ello permitiría ajustar el manejo pos-cosecha de los granos en función del nivel de daño por pre-germinado y de los requerimientos de la industria. Así, si bien el brotado ocasiona la pérdida inmediata de la viabilidad y por lo tanto los daños provocados por esta adversidad son irreversibles, se podrían reducir las consecuencias negativas del pre-germinado, y también del brotado, sobre la viabilidad de los granos a lo largo del almacenaje.

En este Capítulo se abordaron los objetivos particulares 3 y 4 enunciados en la Introducción General, que planteaban estudiar el efecto del pre-germinado a campo de los granos sobre la viabilidad inicial, la longevidad potencial (K_i) y la almacenabilidad de lotes de cebada cervecera, y desarrollar un modelo que permitiera predecir la evolución de la viabilidad de un lote durante el almacenamiento en la industria maltera,

respectivamente. En este sentido, se realizaron ensayos de pre-germinado en tres de los cultivares de cebada cervecera más difundidos en Argentina (Quilmes Ayelén, Scarlett y MP2122), y se exploró la relación existente entre el nivel de pre-germinado (cuantificado a través del Falling Number) y la longevidad potencial (K_i) de los lotes, a los fines de poder utilizar la Ecuación de Viabilidad para el manejo pos-cosecha de los granos a escala industrial.

4.2. Materiales y Métodos

4.2.1. Material vegetal y tratamientos

En dos años experimentales diferentes (2006 y 2009) se realizaron ensayos sobre muestras de lotes de cebada cervecera para la determinación de su longevidad potencial (K_i). En la campaña 2006 se trabajó sobre muestras comerciales de diferentes lotes de producción enviadas por la empresa Maltería Pampa S.A. (cvs. Quilmes Ayelén, Scarlett, MP546, MP1010 y MP1109). Previamente, a cada una de estas muestras se le había determinado su valor de Falling Number (FN).

En 2009 se recibieron muestras de granos de tres cultivares (Quilmes Ayelén, Scarlett y MP2122), las cuales se sometieron a tratamientos para lograr diferentes niveles de daño por pre-germinado con el objetivo de conseguir variabilidad en el valor de FN. Los tratamientos consistieron en la inducción de la germinación de los granos a partir del humedecimiento de los mismos (remojo en agua destilada por 5 min, y luego reposo “al aire” a temperatura ambiente durante diferentes tiempos -0, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 y 14 h-), con la intención de simular un evento de lluvia a campo. Durante el tiempo que duró el reposo los granos se mantuvieron húmedos mediante aspersiones frecuentes con agua destilada. Una vez transcurrido este tiempo las muestras se secaron en estufa a 38°C hasta alcanzar la humedad comercial de almacenaje (aprox. 12% base húmeda). Se realizaron tres repeticiones. Luego, se reservaron aprox. 100 g de cada muestra y repetición para la determinación del valor de FN en la maltería.

Las determinaciones de FN se realizaron, en todos los casos, según las normas de la American Association of Cereal Chemists (AACC 2000b).

4.2.2. Envejecimiento acelerado y determinaciones

Con las muestras de ambos años experimentales se realizaron ensayos de envejecimiento acelerado de los granos, a los fines de la determinación de la longevidad potencial o constante de lote (K_i), según el siguiente protocolo:

- 1) Determinación del contenido inicial de humedad de los granos: se utilizó el método de estufa de alta temperatura (2 h a 130°C) (ISTA 1985a,b).
- 2) Ajuste del contenido de humedad de los granos: La humedad inicial de las muestras fue ajustada hasta un contenido de $15 \pm 0,5\%$ (base húmeda) (Pieta

Filho y Ellis 1991). Para ello se utilizó una cámara climática regulada a 10°C y 92-99% de humedad relativa (HR).

- 3) Determinación de la longevidad potencial (K_i) de cada una de las muestras: Los granos de cada muestra fueron colocados en pequeñas bolsas de polietileno con cierre tipo “zipper” (7x4 cm, una bolsa por muestra, repetición y día de extracción). Todas las bolsitas del mismo día de extracción fueron agrupadas y colocadas dentro de bolsas de polietileno y luego selladas con film adherente, formándose un único bulto por día de extracción. Esto se realizó con el objetivo de mantener la humedad de los granos a lo largo del período de envejecimiento. Para que el envejecimiento de los granos se produzca en forma acelerada estos bultos fueron almacenados en cámaras climáticas a una temperatura de 40°C (Pieta Filho y Ellis 1991) y 80% HR. Durante el almacenamiento se extrajeron los bultos, con una frecuencia diaria al principio y en ciertas ocasiones más adelante en el envejecimiento cada 2-3 días, para realizar ensayos de germinación *sensu stricto* de los granos. Estos ensayos se condujeron según se describió precedentemente (Capítulo 2), incubando en este caso 30 cariopses a una temperatura de 10°C durante 12 días. El porcentaje de germinación final total fue tomado como el valor de viabilidad de cada muestra y día de extracción, transformándose luego a valores Probit (Finney 1962; Ellis y Roberts 1981). Dado que en algunas ocasiones (e.gr., lotes con cierto nivel de dormición) el número de semillas germinadas es menor al de semillas efectivamente viables, se contrastó el valor de viabilidad obtenido mediante esta metodología con el arrojado por un test topográfico de tetrazolio (EBC 1997) que se realizó sobre parte de las muestras. No se hallaron diferencias significativas ($p>0,24$) entre ambos métodos de determinación de la viabilidad (Cuadro 4.1).

Cuadro 4.1. Porcentajes de viabilidad de diferentes muestras determinados por ensayos de germinación y test de tetrazolio (TZ). Ambas determinaciones arrojaron valores no significativamente diferentes ($p>0,24$). Análisis de TZ llevados a cabo por gentileza de Patricia Del Fueyo.

Cultivar	Tiempo de envej. acelerado (d)	Viabilidad (%)	
		Tetrazolio	Germinación
Q. Ayelén	0	100	100
Scarlett	0	100	97
MP2122	0	100	99
Q. Ayelén	18	22	17
Scarlett	18	0	0
MP2122	18	0	0

El valor de la K_i de cada una de las muestras fue obtenido como la ordenada al origen de la regresión lineal que describe la evolución de la viabilidad (Probit) a lo largo del período de envejecimiento acelerado.

La viabilidad inicial de cada muestra fue el valor de viabilidad (%) al recibo de la misma/antes del inicio del envejecimiento acelerado.

La almacenabilidad de cada muestra fue calculada como el período (días) hasta que ésta alcanza el 95% de viabilidad bajo condiciones comerciales de almacenaje (i.e., 12% humedad en grano y 25°C de temperatura), despejándose su valor a partir de la Ecuación Universal de Viabilidad (Ellis y Roberts 1980a,b, 1981).

4.2.3. Modelización de la relación K_i -FN

Los valores de K_i se relacionaron con sus correspondientes FN mediante modelos de regresión lineal simple. En 2009 esta operación se realizó para cada uno de los 3 cultivares analizados ese año, y luego se exploró un modelo general conteniendo todos los datos. En la campaña agrícola 2006, dadas las excelentes condiciones meteorológicas hacia la cosecha, los valores de FN de las muestras recibidas fueron medios-altos. Entonces, esos datos fueron utilizados para realizar la validación de los modelos antes descriptos. Para suplir la falta de bajos valores de FN se incorporaron a la validación los datos generados por Del Fueyo *et al.* en 1999, quienes trabajaron con el cv. Quilmes Palomar.

Luego de su modelización, la relación K_i -FN se integró a la Ecuación Universal de Viabilidad (Ellis y Roberts 1980a,b, 1981) con los objetivos de facilitar la estimación de la K_i de un lote de cebada cervecera y hacer posible, al recibo del mismo, la predicción de la evolución de la viabilidad de los granos durante su almacenamiento. La forma general de la Ecuación de Viabilidad (Ellis y Roberts 1980a,b, 1981) se expresa en la ecuación 4.1:

$$V = K_i - p / \sigma = K_i - p / 10^{(K_E - C_W \log MC - C_H T - C_Q T^2)} \quad [\text{Ec. 4.1}]$$

donde:

V = viabilidad en unidades Probit

K_i = longevidad potencial o constante de lote

p = período de almacenaje (días)

MC = contenido de humedad de las semillas (% en base húmeda)

T = temperatura de almacenaje (°C)

K_E, C_W, C_H, C_Q = constantes de especie

Para la especie cebada cervecera (*Hordeum vulgare* L.) la Ec. 4.1 queda planteada como sigue:

$$V_{\text{probit}} = K_i - p/10^{(9,983 - 5,896 \log MC - 0,04 T - 0,000428 T^2)} \quad [\text{Ec. 4.2}]$$

4.2.4. Análisis estadístico

Los datos fueron analizados estadísticamente mediante ANVA, a fin de evaluar el efecto del pre-germinado sobre el FN, la viabilidad inicial, la longevidad potencial y la almacenabilidad de los lotes. Las medias entre tratamientos fueron comparadas a través del método de diferencia mínima significativa (DMS), con un nivel de significancia del 5%.

Los parámetros de las regresiones lineales generadas fueron comparados estadísticamente mediante una prueba F (Statistix v7.0, 2000).

4.3. Resultados

4.3.1. Efecto del pre-germinado sobre la viabilidad inicial, longevidad potencial y almacenabilidad de los lotes

En 2009, en los tres cultivares de cebada analizados un mayor tiempo de reposo de los granos humedecidos significó un mayor nivel de daño por pre-germinado, como lo indicó la caída en el valor de FN de las muestras (Cuadro 4.2). Excepto en aquellos casos en los que se observó brotado propiamente dicho (i.e., 12 o 14 h de reposo) el pre-germinado de los granos no provocó efectos inmediatos sobre la viabilidad inicial de los lotes (Cuadro 4.2). Sin embargo, en todos los cultivares la viabilidad cayó más anticipadamente a medida que aumentó el tiempo de reposo y el nivel de pre-germinado de los granos de cebada (Fig. 4.1), dando cuenta de una reducción de la longevidad potencial y de la almacenabilidad de los lotes a causa de esta adversidad (Cuadro 4.2).

Cuadro 4.2. Valores de Falling Number (FN), Viabilidad inicial (Vi), Longevidad potencial (K_i) y Almacenabilidad (Alm. $V_{95\%}$) de lotes de cebada cervecera sometidos a diferentes tratamientos de pre-germinado (a mayor tiempo de reposo potencialmente mayor daño por pre-germinado), para los tres cultivares analizados en 2009. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (DMS Fisher, $p < 0,05$).

T. de reposo (h)	Q. Ayelén				Scarlett				MP2122			
	FN (seg)	Vi (%)	K_i (probit)	Alm. $V_{95\%}$ (d)	FN (seg)	Vi (%)	K_i (probit)	Alm. $V_{95\%}$ (d)	FN (seg)	Vi (%)	K_i (probit)	Alm. $V_{95\%}$ (d)
0	396 a	100 a	8,92 a	513 a	321 a	96 a	7,89 a	282 a	287 abcd	99 ab	8,31 a	377 a
2	391 a	97 a	8,35 b	384 b	309 a	98 a	7,98 a	301 a	358 a	97 ab	8,28 a	369 a
3	356 a	100 a	8,48 ab	414 ab	307 a	98 a	7,84 a	270 a	336 ab	96 ab	8,46 a	411 a
4	372 a	100 a	8,85 a	498 a	312 a	96 a	7,67 a	233 a	344 a	99 ab	8,19 a	350 a
5	360 a	99 a	8,48 ab	415 ab	304 a	98 a	7,39 a	168 a	322 abc	98 ab	7,45 bc	183 bc
6	381 a	100 a	8,21 b	354 b	287 a	99 a	7,64 a	226 a	327 abc	95 b	7,25 c	138 c
8	293 b	99 a	8,11 bc	330 bc	183 b	96 a	7,47 a	188 a	232 d	100 a	7,98 ab	303 ab
10	288 b	99 a	7,70 cd	239 cd	74 c	92 ab	6,43 b	-47 b	254 cd	98 ab	6,85 c	47 c
12	304 b	99 a	7,32 d	153 d	74 c	84 bc	6,17 bc	-106 bc	267 bcd	97 ab	7,18 c	121 c
14	62 c	84 b	5,59 e	-237 e	95 c	81 c	5,33 c	-295 c	62 e	85 c	5,41 d	-277 d

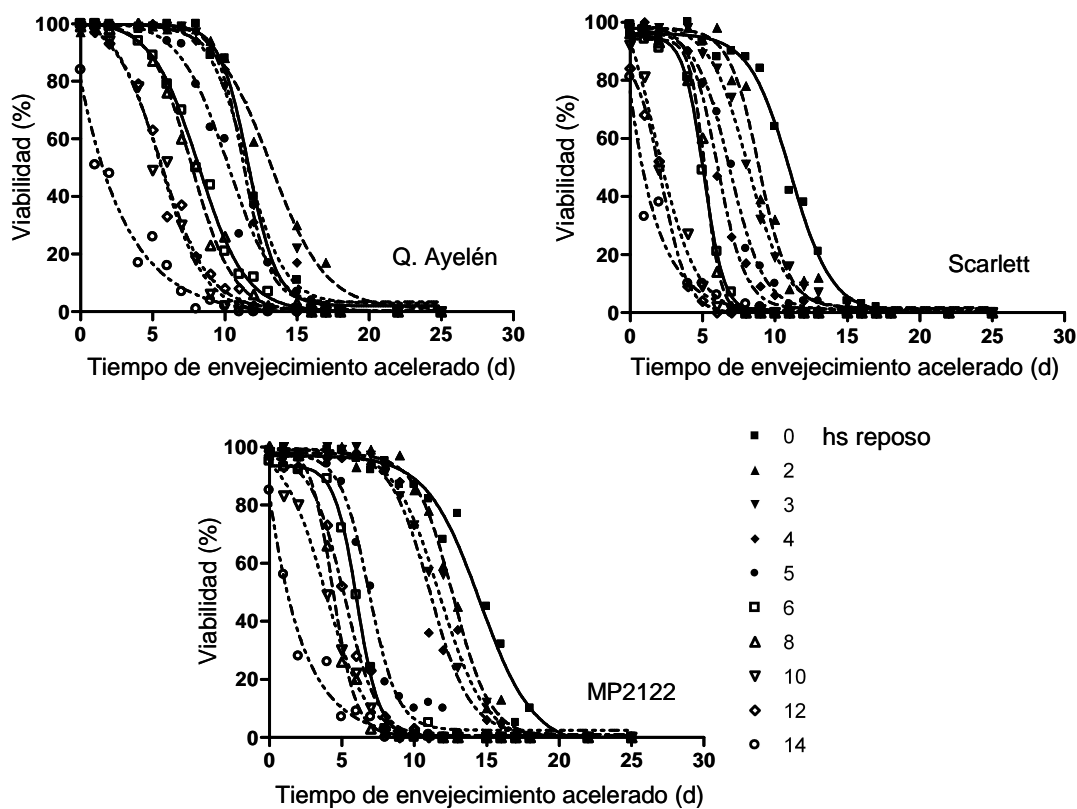


Figura 4.1. Evolución de la viabilidad (%) a lo largo del tiempo de envejecimiento acelerado de lotes de cebada cervecera sometidos a distintos tratamientos de pre-germinado, para tres cultivares diferentes.

4.3.2. Relaciones entre el Falling Number y la longevidad potencial (K_i) de los lotes

Se halló una relación positiva y significativa ($p < 0,01$) entre la longevidad potencial (K_i) y el valor de FN de los lotes, para cada uno de los tres cultivares de cebada analizados (Fig. 4.2 y Cuadro 4.3). Esta relación fue descrita por una regresión lineal simple. Dada la similitud en el valor de los parámetros de cada regresión lineal entre cultivares, se propuso un Modelo General que describa la relación entre la K_i y el FN para las tres variedades (Fig. 4.3). Cuando se comparó la pendiente b y la ordenada al origen a de cada relación con aquellas del Modelo General no se encontraron diferencias significativas para ninguno de estos parámetros, en ninguna de las variedades analizadas (Cuadro 4.3).

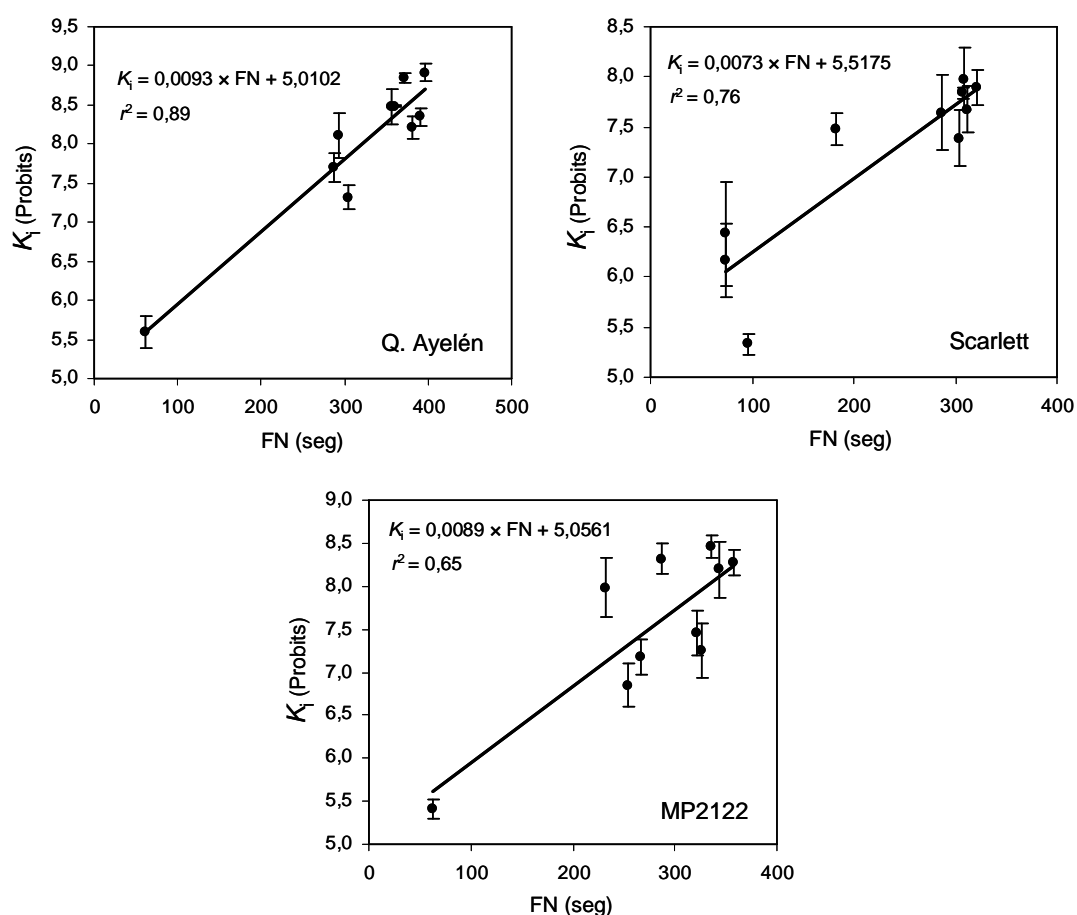


Figura 4.2. Relación entre la longevidad potencial (K_i) de lotes de cebada cervecera y sus valores de Falling Number (FN), para tres cultivares diferentes.

Cuadro 4.3. Parámetros (pendiente y ordenada al origen) y coeficiente de determinación ajustado (r^2) de la regresión lineal que describe la asociación entre la K_i y el FN, para cada cultivar de cebada. Comparación de parámetros entre la regresión lineal para cada cultivar y un Modelo General construido con datos de las tres variedades.

Cultivar	n	r^2 ajustado	Pendiente	Ordenada al origen	MSE	Comparación (valor p)	
						Pendientes	Ordenadas al origen
Modelo General	30	0,8041	0,0084	5,2458	0,1820	-	-
Q. Ayelén	10	0,8885	0,0093	5,0102	0,1062	0,5744	0,8072
Scarlett	10	0,7646	0,0073	5,5175	0,1872	0,4740	0,9662
MP2122	10	0,6461	0,0089	5,0561	0,3088	0,8211	0,6894

4.3.3. Validación del modelo general K_i -FN

Una vez comprobada la factibilidad de un único Modelo General para varios cultivares comerciales de cebada, se verificó la validez del mismo contrastándolo contra datos independientes de campo obtenidos en 2006 (cvs. Q. Ayelén, Scarlett, MP546, MP1010 y MP1109) (Fig. 4.3). En dicha validación también se incluyeron datos generados por Del Fueyo *et al.* (1999) para el cv. Q. Palomar. Al compararse los parámetros del Modelo General con aquellos de la regresión lineal construida con los datos de campo no se observaron diferencias significativas en el valor de la pendiente ($p>0,42$) ni en la ordenada al origen ($p>0,13$) (Cuadro 4.4). También, se utilizaron los datos de FN de los lotes de campo para, a partir de este Modelo General, predecir la K_i de los mismos. Cuando se compararon las K_i predichas con los valores efectivamente observados luego del envejecimiento acelerado 24 de los 34 puntos (70,6% de los lotes) quedaron contenidos en el rango de $\pm 10\%$ de variación de la K_i alrededor de la línea 1:1 (Fig. 4.4). Todos los puntos excepto uno (97,1% de los lotes) fueron contenidos en el rango de $\pm 20\%$ alrededor de la misma línea (Fig. 4.4).

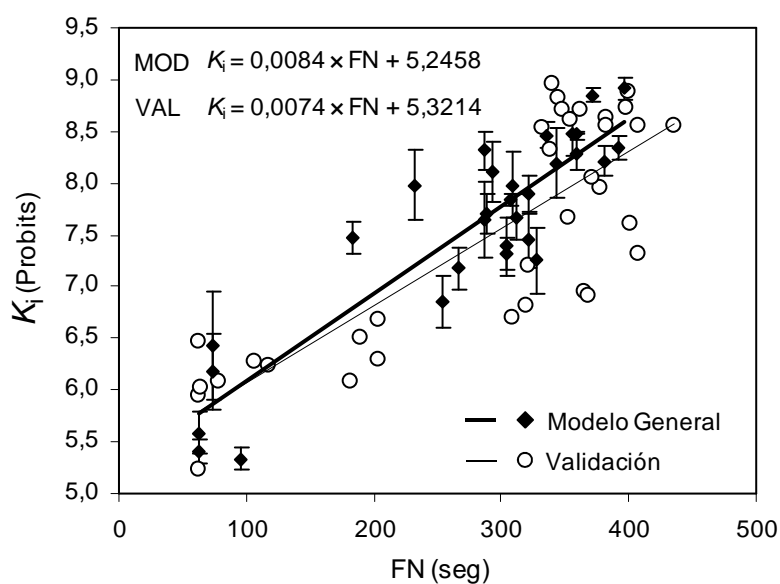


Figura 4.3. Modelo General de la relación K_i -FN construido con datos de las tres variedades de cebada analizadas en 2009. Los círculos vacíos representan un set de datos independiente, incluyendo datos de los cvs. Quilmes Ayelén, Scarlett, MP546, MP1010 y MP1109 (evaluados en el año 2006) y de Q. Palomar (Del Fueyo *et al.* 1999). Nótese la ausencia de diferencias significativas en los valores de pendiente ($p > 0,42$) y ordenada al origen ($p > 0,13$) entre ambas regresiones.

Cuadro 4.4. Comparación de parámetros (pendiente y ordenada al origen) entre el Modelo General construido con datos de tres variedades de cebada (año 2009) y la regresión lineal K_i -FN de datos de campo independientes (año 2006).

Regresión lineal	n	r^2 ajustado	Pendiente	Ordenada al origen	MSE	Comparación (valor p)	
						Pendientes	Ordenadas al origen
Modelo General	30	0,8041	0,0084	5,2458	0,1820	-	-
Validación	34	0,6733	0,0074	5,3214	0,4083	0,4267	0,1392

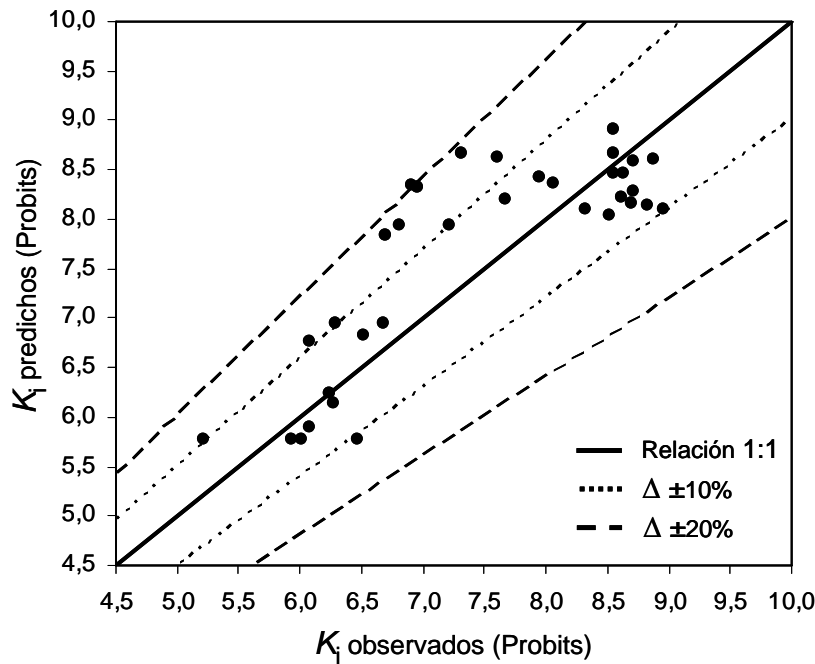


Figura 4.4. Valores de K_i predichos vs. observados de los lotes de campo. La predicción fue realizada a partir del FN de los mismos, mediante el Modelo General desarrollado en 2009. Los valores observados fueron obtenidos por la metodología de envejecimiento acelerado. La línea gruesa indica la relación 1:1. Las líneas punteadas y discontinuas indican un $\pm 10\%$ y $\pm 20\%$ de variación de la K_i alrededor de la relación 1:1, respectivamente.

4.3.4. Aplicación de los resultados obtenidos a la predicción de la viabilidad de lotes de cebada cervecera con daños por pre-germinado durante el almacenamiento comercial

Los resultados obtenidos en este Capítulo permiten estimar la K_i del lote de cebada a partir de su valor de FN, de manera tal que podemos reemplazar en [Ec. 4.2] (ver Materiales y Métodos de este Capítulo):

$$V_{\text{probit}} = \overbrace{0,0084 \times FN + 5,2458}^{K_i} - p / 10^{(9,983 - 5,896 \log MC - 0,04 T - 0,000428 T^2)} \quad [\text{Ec. 4.3}]$$

Para pasar los valores de viabilidad en unidades Probit (V_{probit}) a porcentaje ($V\%$) se puede utilizar la siguiente ecuación:

$$V\% = -0,02097 + (1,016 + 0,02097) / (1 + 10^{(4,993 - V_{\text{probit}}) \times 0,6819}) \quad [\text{Ec. 4.4}]$$

4.3.5. Consecuencias teóricas del pre-germinado sobre la almacenabilidad de lotes de cebada cervecera

A partir de los resultados obtenidos en este Capítulo pueden simularse las consecuencias de diferentes niveles de pre-germinado (reflejados en el valor de FN) sobre la marcha de la viabilidad y la almacenabilidad de lotes de cebada cervecera. A manera de ejemplo se presentan los siguientes cuadros:

Cuadro 4.5. Evolución teórica de la viabilidad (%) durante el almacenamiento bajo condiciones comerciales (12% humedad en grano, base húmeda; 25°C temperatura) de lotes de cebada con diferente nivel de daño por pre-germinado (reflejado en el valor de FN). Los valores en negrita indican cuando se ha superado la tolerancia de recibo comúnmente establecida por las malterías (i.e., 95% viabilidad).

Almacenaje (días)	Viabilidad (%)				
	FN (seg)				
	200	250	300	350	400
0	96,9	99,1	99,9	99,9	99,9
30	95,9	98,6	99,9	99,9	99,9
60	94,6	97,9	99,7	99,9	99,9
90	93,2	97,1	99,2	99,9	99,9
180	86,8	93,4	97,2	99,3	99,9
270	77,0	87,3	93,7	97,4	99,4
360	63,4	77,7	87,7	94,0	97,5

Cuadro 4.6. Almacenabilidad teórica (días de almacenaje bajo condiciones comerciales hasta alcanzar una viabilidad del 95 o 98%) de lotes con diferente nivel de daño por pre-germinado.

FN (seg)	Almacenabilidad (d)	
	V 95%	V 98%
200	67	-26
250	162	69
300	257	165
350	352	260
400	447	355

Cuadro 4.7. FN mínimo necesario para obtener una viabilidad de 95 o 98% en diferentes momentos del almacenaje bajo condiciones comerciales.

Almacenaje (días)	FN mínimo (seg)	
	V 95%	V 98%
30	181	229
60	197	245
90	212	261
180	260	308
270	307	355
360	354	403

4.4. Discusión

El pre-germinado a campo de los granos de cebada cervecera no afectó ($p < 0,05$) la viabilidad de los lotes al inicio del almacenamiento, pero sí provocó efectos adversos sobre la longevidad potencial (K_i) y la almacenabilidad de los mismos, en los principales cultivares comerciales utilizados actualmente en Argentina (Q. Ayelén, Scarlett y MP2122) (Cuadro 4.2). En este sentido, se encontró una estrecha relación lineal y positiva entre la K_i y el valor de Falling Number (FN) de los lotes, para cada uno de los cultivares (Fig. 4.2). Dada la similitud en el valor de la pendiente y ordenada al origen entre cultivares se pudo trazar una única relación K_i -FN para las tres variedades de cebada analizadas (Modelo General; $r^2 = 0,8041$, $p < 0,001$) (Cuadro 4.3 y Fig. 4.3). Estos resultados están en concordancia con los hallados por Del Fueyo *et al.* (1999) con el cv. Quilmes Palomar. En ambos casos se trató de cultivares de cebada con una tasa de salida de la dormición intermedia. Sin embargo, estos investigadores no encontraron una relación significativa entre la K_i y el FN de lotes del cv. B1215, el que se caracteriza por una alta tasa de salida de la dormición y por ende un comportamiento muy susceptible a BPC. Los datos de Q. Palomar obtenidos por Del Fueyo *et al.* (1999) fueron utilizados junto a datos independientes de muchos otros cultivares de cebada cervecera (Q. Ayelén, Scarlett, MP546, MP1010 y MP1109) para realizar una validación del Modelo General desarrollado en este Capítulo (Fig. 4.3 y Cuadro 4.4). En la comparación de los valores de K_i predichos vs. los observados los 34 lotes de campo, excepto uno, cayeron en el rango de $\pm 20\%$ de variación de la K_i con respecto a la relación 1:1 (Fig. 4.4). Estos hallazgos robustecen los resultados obtenidos y parecen indicar que la relación K_i -FN se encuentra bastante conservada entre cultivares comerciales de cebada cervecera diferentes (por lo menos entre aquellos con una tasa de salida de la dormición intermedia).

Los resultados hallados en este Capítulo posicionan al FN como un buen estimador de la longevidad potencial de lotes de cebada cervecera. Sin embargo, no debemos olvidar que el modelo K_i -FN se encuentra incluido dentro de otro más amplio (i.e., la Ecuación de Viabilidad). Para una validación completa de este sistema se debería evaluar su funcionamiento en conjunto, analizando en qué medida el valor de

viabilidad de un lote de cebada predicho a partir de su FN y las condiciones de almacenaje, y luego de p días de almacenamiento comercial, se corresponde con el valor real observado.

Existen pocos estudios que expliquen el efecto del pre-germinado sobre la longevidad potencial y la almacenabilidad de lotes de granos. El tratamiento de priming consiste en la hidratación controlada de las semillas hasta un cierto valor, de forma tal de inducir los primeros eventos germinativos pero sin llegar a la protusión de la radícula. Luego, las semillas son secadas a una temperatura adecuadamente suave, y se almacenan hasta su utilización. Eventos similares ocurren durante el fenómeno de pre-germinado. El priming fue concebido para aumentar el porcentaje, la uniformidad y la tasa de germinación de un lote de semillas, principalmente de especies hortícolas. Sin embargo, al igual que con el pre-germinado, las semillas sometidas a priming también ven reducida su longevidad potencial. Varios trabajos muestran este efecto en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (Alvarado y Bradford 1988; Argerich y Bradford 1989); lechuga (*Lactuca sativa* L.) (Kraak y Weges 1989; Tarquis y Bradford 1992); puerro (*Allium porrum* L.) (Corbineau *et al.* 1994); girasol (*Helianthus annuus* L.) (Chojnowski *et al.* 1997); trigo (*Triticum aestivum* L.) (Nath *et al.* 1991); maíz (*Zea maíz* L.) (Chang y Sung 1998); y sorgo granífero [*Sorghum bicolor* L. (Moench)] (Moradi y Younesi 2009). El envejecimiento, que ocurre de manera inexorable durante el almacenamiento, conlleva diversos daños fisiológicos acumulativos en las semillas. Entre ellos podemos mencionar los daños genéticos, a las mitocondrias, en la estructura y estabilidad de las membranas y en la funcionalidad de las enzimas reparadoras (McDonald 1999). Las semillas sometidas a priming parecerían tener una menor capacidad de reparar estos daños (i.e., menor actividad de enzimas antioxidantes y de reparación del ADN, entre otros) (Van Piljen *et al.* 1996). Mecanismos similares podrían estar operando en lotes pre-germinados de cebada, lo que haría disminuir la longevidad potencial de los granos.

Además del de Del Fueyo *et al.* (1999), no existen trabajos que relacionen parámetros de calidad medidos rutinariamente por la industria maltera en lotes de cebada cervecera (e.gr., Falling Number) con la longevidad potencial de los mismos. Los resultados hallados en este Capítulo reafirman la relación K_i -FN de lotes de cebada cervecera anteriormente obtenida por Del Fueyo *et al.* (1999) con el cv. Quilmes Palomar (Fig. 1.7), y la validan para las principales variedades comerciales de cebada utilizadas actualmente en Argentina. Estos hallazgos permiten salvar las dificultades en la estimación de la K_i para cada lote, facilitando el uso de la ecuación de Viabilidad con fines industriales (i.e., manejo pos-cosecha de granos para semilla y en malterías). De esta manera, y a partir de datos de fácil obtención (i.e., FN del lote, humedad de los granos y temperatura de almacenaje), se puede predecir la evolución de la viabilidad de un lote de cebada durante su almacenamiento comercial (Ec. 4.3). Esto permitiría ajustar las condiciones de almacenaje (humedad de los granos y temperatura), en función del nivel de daño por pre-germinado del lote, a los fines de obtener una tasa de pérdida de viabilidad acorde con los requerimientos de la industria. A su vez, estos conocimientos permitirían asignar prioridades de malteo entre lotes afectados por pre-germinado (i.e., maltear en primer lugar los lotes más dañados).

CAPÍTULO 5

DISCUSIÓN GENERAL

5.1. Discusión General

La dormición de los granos de cebada cervecera (*Hordeum vulgare* L.) es una característica que provoca serios inconvenientes en la industrialización de los mismos. Tanto un alto como un bajo nivel de dormición generan perjuicios en el proceso de malteado: en el primer caso debiendo almacenarse los granos el tiempo suficiente hasta que estos pierdan la dormición, con el consiguiente costo y deterioro que eso genera; en el segundo a partir de la exposición del cultivo a una alta susceptibilidad al brotado pre-cosecha (BPC) (Benech-Arnold 2001). El genotipo comercialmente ideal de cebada (ideotipo) sería aquel que salga de la dormición lo suficientemente rápido después de la cosecha como para ser malteado inmediatamente (Fig. 1.3), evitándose de esta manera los dos problemas mencionados más arriba. En base al conocimiento y las herramientas actualmente disponibles, y pese a los grandes avances en el entendimiento de los mecanismos de la dormición por parte de la fisiología y genética modernas, el mejoramiento genético todavía no ha podido lograr ajustar la dinámica de salida de la dormición de un cultivo de cebada a los requerimientos de las malterías y de los productores agrícolas. Es por ello que en las principales regiones productoras de cebada del mundo la mayoría de los cultivares utilizados en la actualidad presentan una tasa de salida de la dormición intermedia (Romagosa *et al.* 1999), un compromiso entre una dormición excesivamente persistente y una alta susceptibilidad a sufrir daño por brotado. En estos cultivares moderadamente susceptibles a BPC el ambiente durante el llenado de granos juega un papel decisivo en la determinación de la dinámica de salida de la dormición de los granos. Tanto es así que un mismo cultivar puede comportarse como resistente a brotado en algunas campañas agrícolas, mientras que como susceptible en otras (Benech-Arnold 2004).

Es por ello que se hacen necesarias herramientas tecnológicas de manejo que permitan evitar o disminuir la incidencia del brotado (manejo pre-cosecha del BPC), y reducir las consecuencias del mismo durante el almacenamiento comercial de los granos (manejo pos-cosecha del BPC).

La hipótesis 1 (derivada de los objetivos 1 y 2 de esta tesis) planteaba que la temperatura del aire, la disponibilidad hídrica y de N del suelo y el fotoperíodo durante el llenado de granos determinan la susceptibilidad a BPC del cultivo de cebada cervecera en variedades con resistencia intermedia a esta adversidad. Esta hipótesis 1 fue aceptada parcialmente. Los resultados hallados en el Capítulo 2 para los principales cultivares de cebada cervecera actualmente sembrados en Argentina (Scarlett, Quilmes Painé, Q. Ayelén y Q. Palomar, en orden de importancia) indicaron que las altas temperaturas exploradas por el cultivo hacia las últimas etapas del llenado de granos estaban relacionadas con un bajo nivel de dormición cercano a cosecha, y entonces con una alta susceptibilidad a BPC (Fig. 2.5). La ubicación de la ventana de sensibilidad a la temperatura dentro del período de llenado fue similar en todos los cultivares (Fig. 2.6). Esto indicaría que, en aquellos cultivares de cebada cervecera con resistencia intermedia a BPC, la dinámica de salida de la dormición se encuentra regulada por eventos fisiológicos, sensibles al ambiente, que tienen lugar durante las últimas etapas del desarrollo seminal. En el Capítulo 2 se analizó el efecto del fotoperíodo durante el

llenado sobre la salida de la dormición en dos de los cultivares, hallándose algunos efectos leves pero sólo para los tratamientos extremos (i.e., alargamiento o acortamiento del fotoperíodo en 4 h con respecto al control) (Fig. 2.7). En el Capítulo 3 se investigó el efecto de la oferta de N del suelo y de la disponibilidad hídrica durante el llenado de granos sobre la dinámica de salida de la dormición. No se hallaron efectos significativos del N en ninguno de los cuatro cultivares analizados en los modelos de respuesta al ambiente térmico (Figs. 3.2 y 3.3). La sequía durante el llenado promovió fuertemente la salida de la dormición (i.e., aumentó la susceptibilidad a BPC) en todos estos cultivares, aunque este efecto fue comprobado sólo en uno de dos años experimentales (Figs. 3.2 y 3.3). Este hecho fue explicado por las contrastantes condiciones térmicas exploradas por el cultivo en cada año particular (Cuadro 3.1), poniendo en evidencia que la temperatura durante la ventana de sensibilidad y la disponibilidad hídrica durante el llenado interactúan en su efecto sobre la velocidad de salida de la dormición de cultivos de cebada cervecera (Fig. 3.9). Ante condiciones extremas de alguno de estos factores (i.e., altas temperaturas o estrés hídrico severo) el efecto de ese factor particular se impone sobre el del otro, determinando que la velocidad de salida de la dormición sea muy elevada (Fig. 3.9).

Estos hallazgos confirman que las condiciones ambientales exploradas durante el llenado de granos por el cultivo de cebada cervecera tienen valor predictivo de la susceptibilidad a BPC del mismo. A partir de los ensayos de ambiente térmico (Capítulo 2) se desarrollaron modelos predictivos de la susceptibilidad a BPC para los cuatro cultivares de cebada cervecera mencionados anteriormente (Fig. 2.5; Cuadro 2.4). En la validación preliminar de estos modelos se encontró que todos ellos subestimaban la susceptibilidad a BPC (Fig. 2.8). Sin embargo, se mantuvo la respuesta (i.e., pendiente) del IG a la temperatura en las parcelas de validación (Cuadro 2.7). Así, el ambiente térmico durante el llenado explicó sólo una dimensión de la variabilidad observada en el nivel de dormición. El estudio de la acción de otros factores ambientales sobre la salida de la dormición (hipótesis 1) reveló que la sequía estaría detrás de la subestimación del IG hallada durante la validación (Capítulo 2). Sin embargo, condiciones meteorológicas adversas durante dos campañas experimentales consecutivas impidieron obtener una cuantificación del efecto de la disponibilidad hídrica sobre la susceptibilidad a BPC, y su modelización cualitativa no permitió la integración de este factor ambiental en los modelos predictivos de esta adversidad desarrollados en el Capítulo 2. Este tema debería priorizarse en investigaciones futuras, a fin de completar y profundizar los conocimientos ya generados. Obviamente, y dada la ausencia de efectos significativos sobre el nivel de dormición, las condiciones de disponibilidad de N del suelo (Capítulo 3; Figs. 3.2 y 3.3) y de fotoperíodo (Capítulo 2; Fig. 2.7) durante el llenado no tuvieron valor predictivo alguno sobre la susceptibilidad a BPC del cultivo.

Hasta la producción de esta tesis no existían estudios en cebada cervecera que hubieran explorado, a campo, el efecto sobre la dinámica de salida de la dormición de una diversidad de factores ambientales tan amplia como la abordada en este trabajo. Además, para algunos de estos factores (i.e., fotoperíodo) existen muy pocos antecedentes en la literatura científica para esta especie. Estos nuevos conocimientos permiten comprender de manera más acabada cómo el ambiente explorado por la planta

madre puede modular la salida de la dormición de semillas de cebada. Para complementar estos hallazgos deberían investigarse cuáles son las bases fisiológicas (e.gr., contenido y sensibilidad a las hormonas vegetales que controlan el nivel de dormición de los granos) y moleculares (e.gr., genes de metabolismo y señalización de estas hormonas) que se encuentran detrás de estos efectos ambientales. Así, los hallazgos del presente trabajo, y los que de futuras investigaciones se deriven, contribuirán a mejorar el entendimiento de los mecanismos fisiológicos y moleculares que regulan la dinámica de salida de la dormición de un cultivo de cebada (y entonces su comportamiento frente al brotado) y de cómo estos mecanismos interactúan con el ambiente. Esta información podrá ser utilizada en los programas de mejoramiento genético a fin de obtener materiales de cebada con una tasa de salida de la dormición más ajustada a los requerimientos de la industria maltera.

La conducción de los ensayos a campo en esta tesis, en condiciones muy similares a las reales de producción, hace más extrapolables los hallazgos a cultivos comerciales. Sin embargo, se deberían enriquecer los modelos predictivos propuestos con información proveniente de un más amplio rango de ambientes (años y localidades) a fin de dar mayor continuidad en la variable independiente (i.e., temperatura durante la ventana de sensibilidad y Falling Number) y aumentar la variabilidad ambiental explorada, robusteciendo la predictibilidad de los mismos. Esto haría más fiable la aplicación agronómica de los conocimientos generados. Atendiendo a estas limitaciones, estos hallazgos sientan las bases para que un productor de cebada cervecera pueda predecir de manera fácil la susceptibilidad a BPC de su cultivo y, junto con el pronóstico de lluvias para el período cercano a la cosecha, estimar el riesgo a sufrir daños por brotado. Si éste es alto podría tomar la decisión de cosechar anticipadamente (i.e., con un porcentaje de humedad en los granos mayor al recomendado) y completar el secado de manera artificial.

Por otro parte, en el Capítulo 4 de esta tesis se abordó el problema del manejo pos-cosecha de la viabilidad de lotes de cebada, particularmente de aquellos con daños por pre-germinado y/o brotado, a escala industrial. Estas adversidades afectan la capacidad germinativa de los granos y entonces reducen la longevidad potencial (K_i) y la almacenabilidad de los lotes (Bason *et al.* 1993; Del Fueyo *et al.* 1999), perjudicando la calidad y eficiencia del proceso de malteado.

La hipótesis 2 (derivada del objetivo 3 de esta tesis) proponía que el pre-germinado a campo de los granos de cebada cervecera no tiene efectos inmediatos sobre la viabilidad del lote al inicio del almacenamiento, pero sí reduce la longevidad potencial y la almacenabilidad del mismo. Esta hipótesis fue totalmente aceptada. Los resultados del Capítulo 4 confirman que el pre-germinado no provoca efectos significativos sobre la viabilidad de los granos a corto plazo (i.e., al inicio del almacenamiento), pero sí produce consecuencias adversas a mediano-largo plazo sobre la longevidad potencial y la almacenabilidad del lote, en las principales variedades de cebada cultivadas en Argentina (Q. Ayelén, Scarlett y MP2122) (Cuadro 4.2).

La hipótesis 3 (derivada del objetivo 4 de esta tesis) propone que, en el cultivo de cebada cervecera, el parámetro de calidad “Falling Number” es un integrador de las condiciones de maduración experimentadas por los granos a campo y por lo tanto

constituye un buen estimador de la longevidad potencial de un lote de granos. Esta hipótesis fue aceptada. En el Capítulo 4 se encontró una estrecha relación positiva entre los valores de K_i y FN de lotes de cebada cervecera, para cada uno de los cultivares anteriormente mencionados (Fig. 4.2 y Cuadro 4.3). A partir de estos hallazgos se desarrolló un modelo general que permitió estimar el valor de la K_i de un lote de cebada al recibo de los granos (i.e., en el momento de medición del FN) (Fig. 4.3), salvando la dificultad de la engorrosa estimación experimental de este parámetro. Este modelo fue validado con datos independientes de una amplia variedad de cultivares de cebada (Figs. 4.3 y 4.4; Cuadro 4.4). Entonces este modelo K_i -FN, integrado en la Ecuación de Viabilidad, permitiría predecir la evolución de la capacidad germinativa de un lote de cebada a nivel industrial.

No se conocen trabajos que hayan considerado el uso de la Ecuación de Viabilidad para el manejo pos-cosecha de los granos de cebada cervecera en las malterías. En este sentido el trabajo de Del Fueyo *et al.* (1999) es seminal. Estos autores desarrollaron un modelo que permitía predecir la evolución de la viabilidad para un sólo cultivar de cebada (Quilmes Palomar), el que prácticamente ha desaparecido del mercado argentino en la actualidad. Además, este modelo nunca fue validado.

Los hallazgos del Capítulo 4 sientan las bases para predecir la evolución de la viabilidad de lotes de cebada a lo largo del almacenamiento industrial, lo que posibilitaría ajustar las condiciones ambientales (temperatura y humedad de los granos) durante el mismo en función del nivel de daño de los granos y de los requerimientos de las malterías; y asignar prioridades de malteo entre lotes con diferente nivel de daño.

5.2. Conclusiones

1. Se halló una relación positiva y lineal entre la susceptibilidad a BPC y la temperatura explorada por el cultivo en una estrecha ventana ubicada hacia el final del llenado de granos, en un amplio rango de variedades de cebada cervecera con resistencia intermedia a esta adversidad.
2. El fotoperíodo explorado por el cultivo de cebada cervecera durante el llenado no modificó sustancialmente la dinámica de salida de la dormición de los granos, al menos para el rango de fechas de siembra habitualmente utilizadas en la Región Pampeana Argentina.
3. El estrés hídrico durante el llenado de granos aumentó notablemente la susceptibilidad a BPC del cultivo de cebada cervecera. Sin embargo este efecto dependerá de la temperatura durante la ventana de sensibilidad existiendo interacción entre ambos factores ambientales.
4. La disponibilidad de N del suelo no afectó la salida de la dormición ni la susceptibilidad a BPC, en ninguno de los cultivares de cebada analizados.

5. El pre-germinado no presentó efectos sobre la viabilidad de los granos al inicio del almacenamiento, aunque sí redujo la longevidad potencial y la almacenabilidad de los lotes de cebada cervecera.
6. Se encontró una estrecha relación positiva entre la longevidad potencial de un lote de cebada cervecera y su valor de Falling Number.
7. Los hallazgos de la presente tesis sientan las bases para: 1) desarrollar un sistema de alarma de sencilla aplicación que posibilite a los productores de cebada predecir, a partir del ambiente (i.e., temperatura y disponibilidad hídrica) explorado por el cultivo durante el llenado de granos, la susceptibilidad a BPC del mismo (*manejo pre-cosecha del BPC*); 2) desarrollar modelos que permitan a la industria maltera predecir y ajustar, a partir de datos rutinariamente registrados por la misma (i.e., FN, temperatura y humedad de los granos durante el almacenaje), la evolución de la viabilidad de lotes de cebada cervecera a lo largo del almacenamiento bajo condiciones comerciales (*manejo pos-cosecha del BPC*).

5.3. Consideraciones finales

No obstante estos avances en el entendimiento de la modulación que ejerce el ambiente sobre la dinámica de salida de la dormición de granos de cebada cervecera y en la predicción de la viabilidad de los lotes durante el almacenaje en la industria maltera, numerosos aspectos de interés no han sido totalmente dilucidados y al mismo tiempo se abren nuevos interrogantes a resolver en futuras investigaciones. Por ejemplo, la evaluación cuantitativa del efecto de la disponibilidad hídrica durante el llenado sobre la salida de la dormición permitirá incorporar dicho efecto a los modelos de predicción de la susceptibilidad del cultivo a sufrir BPC basados en el ambiente térmico. De este modo la predicción de la susceptibilidad a brotado se podrá realizar de forma más precisa, particularmente en aquellos ambientes/años con clima templado y lluvias moderadas durante el llenado, al considerarse los dos factores ambientales (i.e., temperatura y disponibilidad de agua) que más influyen en la determinación del comportamiento del cultivo frente al BPC.

A su vez, se deberían investigar los mecanismos fisiológicos y moleculares que subyacen a los efectos de estos factores ambientales. En varias especies de cereales se señaló al contenido y/o sensibilidad al ABA/GAs como los sitios clave de regulación del nivel de dormición de los granos, identificándose en muchas de ellas los genes involucrados en las vías metabólicas y de señalización de estas hormonas vegetales. Dado que estas vías, así como la secuencia de los genes involucrados y la función de sus productos, se encuentran altamente conservadas, es posible hacer una analogía entre la cebada cervecera y los resultados hallados en especies modelo. En maíz y *Arabidopsis thaliana* se han reportado algunas enzimas clave en la biosíntesis de ABA, como la eposidasa (ZEP) y la 9-cis-epoxicarotenoide dioxigenasa (NCED) (Schwartz *et al.* 1997; Iuchi *et al.* 2001; Lefebvre *et al.* 2006). Los genes *HvNCED1* y *HvNCED2* se expresan en embriones de granos de cebada (Millar *et al.* 2006). El principal paso

regulador en la inactivación del ABA tal vez sea el mediado por la enzima ABA-8'-hidroxilasa (Krochko *et al.* 1998; Cutler y Krochko 1999). En maíz, trigo, sorgo y *Arabidopsis* se caracterizaron los factores de transcripción ABI3/VP1, VP5 y PKABA1, siendo reguladores positivos de la cadena de señalización del ABA (Johnson *et al.* 2002; Kuhn y Schroeder 2003; Finkelstein *et al.* 2008; Rodríguez *et al.* 2009). En relación a las GAs, también se han reportado enzimas clave en la ruta de síntesis de estas hormonas (e.g., GA-20-oxidasa y GA-3 β -hidroxilasa) (Phillips *et al.* 1995; Lange 1998; Hedden y Phillips 2000; Toh *et al.* 2008). Existen reguladores positivos (DWARF1, RSG, PHOR1, GID2, GAMyB) (Fukazawa *et al.* 2000; Sasaki *et al.* 2003) y negativos (SPY) (Shimada *et al.* 2006; Toh *et al.* 2008) de la señalización de GAs. Entonces, dentro de este marco y en el contexto de los resultados de esta tesis, las altas temperaturas y el estrés hídrico durante el llenado podrían haber promovido la salida de la dormición del cultivo de cebada a través de la inhibición (en el caso del ABA) o el aumento (en el caso de las GAs) de la expresión de los genes que codifican para componentes involucrados en la síntesis y/o señalización positiva de estas hormonas. En el mismo sentido, pudieron haber mediado estos efectos el aumento de la expresión del gen que codifica para la enzima ABA-8'-hidroxilasa y/o la disminución de la expresión de *SPY*. Estudios futuros que permitan dilucidar estos interrogantes ayudarán a diseñar programas de mejoramiento genético enfocados en la obtención de materiales de cebada con una salida de la dormición más ajustada a los requerimientos de las malterías y de los productores agrícolas.

Por otra parte, es importante avanzar en el desarrollo de los conocimientos acerca del manejo pos-cosecha de los granos de cebada. En este sentido resulta primordial robustecer los modelos de predicción de la viabilidad de lotes de cebada durante el almacenamiento a partir de una validación más exhaustiva de los mismos junto con la Ecuación de Viabilidad y bajo diferentes condiciones de almacenaje. También, el estudio del efecto de la temperatura de secado sobre la viabilidad y la almacenabilidad de los granos de cebada constituye un aspecto importante a ser profundizado en futuras investigaciones. Integrar este efecto en los modelos de predicción de la viabilidad sería el siguiente paso natural para un manejo pos-cosecha de la viabilidad más completo.

Todas las herramientas tecnológicas y los conocimientos científicos generados en esta tesis apuntan a aumentar y conservar la capacidad germinativa de los granos de cebada sin comprometer la germinación rápida y uniforme de los mismos en la industria maltera. De esta manera estos hallazgos contribuyen a lograr una mayor eficiencia y sostenibilidad del sector maltero en particular, y de todo el complejo agroindustrial de la cebada cervecera en general.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- AACC (American Association of Cereal Chemists).** 2000a. Method 22-08, Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. 10ª Edición, St. Paul, MN.
- AACC (American Association of Cereal Chemists).** 2000b. Method 56-81B, Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. 10ª Edición, St. Paul, MN.
- Allen PS, Benech-Arnold RL, Batlla D, Bradford KJ.** 2007. Modeling of seed dormancy. Pp 72-112 en Bradford KJ, Nonogaki H (eds.) Seed Development, Dormancy and Germination. Blackwell Publishing, UK.
- Allen RG, Pereira LS, Raes D, Smith M.** 1998. Crop evapotranspiration-Guidelines for computing crop water requirements. Irrigation and Drainage Paper No. 56, FAO, Rome, Italy.
- Alvarado AD, Bradford KJ.** 1988. Priming and storage of tomato (*Lycopersicon lycopersicum*) seeds. I. Effects of storage temperature on germination rate and viability. Seed Sci. Technol., 16:601-612.
- Argerich CA, Bradford KJ.** 1989. The effects of priming and ageing on seed vigour in tomato. J. Exp. Bot., 40:599-607.
- ASBC (American Society of Brewing Chemists).** 1999. Methods of Analysis, 8th ed. Barley-1 Sampling and grading, -3C Germinative energy, germinative capacity, and water sensitivity-simultaneous determination, -10 Barley pregermination by fluorescein dibutyrate. Malt-1 Sampling. Statistical Analysis-4 Youden unit block collaborative testing procedure, -3 Ruggedness testing. The Society, St. Paul, MN.
- Aspinall DJ.** 1965. Effects of the soil moisture stress on the growth of barley. III. Germination of grain from plants subjected to water stress. J. Inst. Brew., 72:174-176.
- Auranen M.** 1995. Pre-harvest sprouting and dormancy in malting barley in northern climatic conditions. Acta Agric. Scand., 45:89-95.
- Barthe P, Garelo G, Bianco-Trinchant J, Le Page-Degivry MT.** 2000. Oxygen availability and ABA metabolism in *Fagus sylvatica* seeds. Plant Growth Regul., 30:185-191.
- Barthet VJ, Daun JK.** 2005. Effect of Sprouting on the Quality and Composition of Canola Seed and Oil. JAOCS, 82(7):511-517.
- Barton LV.** 1961. Seed preservation and longevity. London: Leonard Hill.
- Baskin CC, Baskin JM.** 1998. Seeds. Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Pp. 666. Academic Press, San Diego.
- Bason ML, Ronalds JA, Wrigley CW, Hubbard LJ.** 1993. Testing for Sprout Damage in Malting Barley Using the Rapid Visco Analyser. Cereal Chem., 70(3):269-272.
- Belderok B.** 1965. Influence of pre-harvest weather on wheat dormancy and its tendency to sprout in the ear. Z. Acker-u. Pflanzenbau, 122:297-313.
- Belderok B.** 1968. Seed dormancy problems in cereals. Field Crop Abstr., 21:203-211.
- Benech-Arnold RL.** 1997. Para que el brotado no se repita. SuperCAMPO, 31:22-25.

- Benech-Arnold RL.** 2001. Bases of pre-harvest sprouting resistance in barley: Physiology, molecular biology and environmental control of dormancy in the barley grain. Pp. 481-502 en Slafer GA, Molina-Cano JL, Savin R, Araus JL, Romagosa I (eds.) Barley Science. Recent advances from molecular biology to agronomy of yield and quality. Food Product Press, New York.
- Benech-Arnold RL.** 2004. Inception, Maintenance, and Termination of Dormancy in Grain Crops: Physiology, Genetics, and Environmental Control. Pp. 169-198 en Benech-Arnold RL y Sánchez RA (eds.) Handbook of Seed Physiology: applications to agriculture. Food Product Press, New York.
- Benech-Arnold RL, Enciso S, Sánchez RA, Carrari F, Pérez-Flores L, Iusem N, Steinbach HS, Lijavetzky D, Bottini R.** 2000b. Involvement of ABA and GAs in the regulation of dormancy in developing sorghum seeds. Pp. 101-111 en Black M, Bradford KJ y Vázquez Ramos J (eds.) Seed Biology: Advances and Applications. CABI, UK.
- Benech-Arnold RL, Fenner M, Edwards PJ.** 1991. Changes in germinability, ABA levels and ABA embryonic sensitivity in developing seeds of *Sorghum bicolor* induced by water stress during grain filling. New Phytol., 118:339-347.
- Benech Arnold RL, Fenner M, Edwards PJ.** 1992. Changes in dormancy level in *Sorghum halepense* seeds induced by water stress during seed development. Functional Ecology, 6:460-468.
- Benech Arnold RL, Fenner M, Edwards PJ.** 1995. Influence of potassium nutrition on germinability, ABA content and embryonic sensitivity to ABA of developing seeds of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. New Phytol., 130:207-216.
- Benech-Arnold RL, Giallorenzi MC, Frank J, Rodriguez MV.** 1999. Termination of hull-imposed dormancy in barley is correlated with changes in embryonic ABA content and sensitivity. Seed Sci. Res., 9:39-47.
- Benech-Arnold RL, Gualano N, Leymarie J, Côme D, Corbineau F.** 2006. Hipoxia interferes with ABA metabolism and increases ABA sensitivity in embryos of dormant barley grains. J. Exp. Bot., 57:1423-1430.
- Benech-Arnold RL, Sánchez RA.** 2003. Applied Aspects of Dormancy, Preharvest Sprouting. Pp. 1333-1339 en Thomas B, Murphy D, Murray B (eds.) Encyclopedia of Applied Plant Sciences. Elsevier, Academic Press, London.
- Benech-Arnold RL, Sánchez RA, Forcella F, Kruk BC, Ghera C.** 2000a. Environmental control of dormancy in weed seed banks in soil. Field Crops Res., 67:105-122.
- Bewley JD, Black M.** 1994. Dormancy and the Control of Germination en Bewley JD, Black M (eds.) Seeds. Physiology of development and germination. 2° ed. Plenum Press, New York.
- Bewley JD, Black M, Halmer P.** 2006. The encyclopedia of seeds: science, technology and uses. Pp. 828. CABI Publishing.
- Bewley JD, Kermode AR, Misra SA.** 1989. Desiccation and minimal drying treatments of seeds of castor bean and *Phaseolus vulgaris* which terminate development and promote germination cause changes in protein and messenger RNA synthesis. Ann. Bot., 63:3-17.
- Biddulph TB, Mares DJ, Plummer JA, Setter TL.** 2005. Drought and high temperature increases preharvest sprouting tolerance in a genotype without grain dormancy. Euphytica, 143:277-283.
- Biddulph TB, Plummer JA, Setter TL, Mares DJ.** 2007. Influence of high temperature and terminal moisture stress on dormancy in wheat (*Triticum aestivum* L.). Field Crops Res., 103:139-153.

- Blaney BJ, Williams KC.** 1991. Effective use in livestock feeds of mouldy and weather-damaged grain containing mycotoxins. Case histories and economic assessments pertaining to pig and poultry industries of Queensland. *Aust. J. Agric. Res.*, 42:993-1012.
- Bradford KJ.** 1994. Water stress and the water relations of seed development: a critical review. *Crop Sci.*, 34:1-11.
- Brandenburger H.** 1967. [Alarm system for sprouting] *VersBer. LandwSchule u. Wirtschaftsberatungs-stelle, Lensahn* 1966-67, 20:26-28.
- Brandenburger H.** 1968. [Alarm system for sprouting in agricultural practice] *Akt. Acker- u. PftBau. Landwkammer Schleswig-Holstein*.
- Briggle, LW.** 1979. Pre-harvest sprout damage in wheat in the U.S. *Cereal Res. Commun.*, 8:245-250.
- Brookes PA.** 1980. The significance of pre-harvest sprouting of barley in malting and brewing. *Cereal Res. Commun.*, 8(1):29-38.
- Buraas T, Skinnnes H.** 1985. Development of seed dormancy in barley, wheat and triticale under controlled conditions. *Acta Agric. Scand.*, 35:233-244.
- Carn JD.** 1980. Detection of rain damaged barley at harvest (pre-harvest sprouting). En: *Proceedings of 30th Annual Australian Cereal Chemistry Conference RACI*, Melbourne.
- Castor LL, Frederiksen RA.** 1977. Seed moulding of grain sorghums caused by *Fusarium* and *Curvularia*. *Proceedings of the Annual Phytopathology Society*, 4:151.
- Ceccato DV, Bertero HD, Batlla D.** 2011. Environmental control of dormancy in quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds: two potential genetic resources for pre-harvest sprouting tolerance. *Seed Sci. Res.*, 21:133-141.
- Chang SM, Sung JM.** 1998. Deteriorative changes in primed shunken-2 sweet corn seeds during storage. *Seed Sci. Technol.*, 26:613-626.
- Chastain TG, Klepper BL, Wilkins DE.** 1994. Relationship of wheat seed sprouting severity, planting depth, and seed treatment to emergence and yield. *Crop Sci.*, 34:508-513.
- Chojnowski M, Corbineau F, Côme D.** 1997. Physiological and biochemical changes induced in sunflower seeds by osmopriming and subsequent drying, storage and aging. *Seed Sci. Res.*, 7:323-331.
- Cochrane, MP.** 1993. Effects of temperature during grain development on the germinability of barley grains. *Aspects of Applied Biology*, 36:103-113.
- Copeland LO, McDonald MB.** 2001. *Principles of Seed Science and Technology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Corbineau F, Bagniol S, Côme D.** 1990. Sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed dormancy and its regulation by ethylene. *Israel Journal of Botany*, 39:313-325.
- Corbineau F, Côme D.** 1980. Quelques caractéristiques de la dormance du caryopse d'Orge (*Hordeum vulgare* L., variété Sonja). *C.R. Acad. Sci. París, Sér. D.*, 28:547-550.
- Corbineau F, Côme D.** 1987. Regulation de las semillas de tournesol par l'éthylène. Volume 1 Pp. 271-282 en: *Annales ANPP, 2^{ème} Colloque sur les substances de croissance et leurs utilisations en agriculture*. Association Nationale de Protection des Plantes, Paris.
- Corbineau F, Côme D.** 1996. Barley seed dormancy. *Bios Boissons Conditionnement*, 261:113-119.
- Corbineau F, Picard MA, Côme D.** 1994. Germination of leek seeds and its improvement by osmopriming. *Acta Horticulturae*, 371:45-52.

- Cseresnyes Z.** 1979. Studies on the duration of dormancy and methods of determining the germination of dormant seeds of *Helianthus annuus*. Seed Sci. Technol., 7:179-188.
- Cutler AJ, Krochko JE.** 1999. Formation and breakdown of ABA. Trends Plant Sci., 4:472-478.
- Del Fueyo PA, Marcaida V, Benech-Arnold RL.** 1999. El pregerminado en granos de cebada afecta su longevidad potencial. Una evaluación cuantitativa. Pp. 52 en Actas del Tercer Congreso Latinoamericano de Cebada. INIA. Colonia del Sacramento, Uruguay.
- Del Fueyo PA, Sánchez RA, Benech-Arnold RL.** 2003. Seed longevity in two sorghum varieties with contrasting dormancy level prior to harvest. Seed Sci. Technol., 31:639-650.
- Derera NF.** 1989a. The effects of preharvest rain. Pp. 1-25 en Derera NF (ed.) Preharvest Field Sprouting in Cereals. CRC Press, Boca Ratón.
- Derera NF.** 1989b. A perspective of sprouting research. Pp. 3-11 en Ringlund K, Mosleth E, Mares DJ (eds.) Fifth International Symposium on Preharvest Sprouting in Cereals. Westview Press, Boulder.
- EBC (European Brewery Convention).** 1997. Analytica-EBC, Method 3.5.1. 5th ed.
- Elias S, Copeland LO.** 1991. Effects of preharvest sprouting on germination, storability and field performance of red and white wheat seed. J. Seed Technol., 15:67-68.
- Ellis RH.** 1991. The longevity of seeds. HortScience, 26(9):1119-1125.
- Ellis RH, Hong TD, Jackson MT.** 1993. Seed production environment, time of harvest and the potential longevity of seeds of three cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). Ann. Bot., 72:583-590.
- Ellis RH, Ogsei-Bonsu K, Roberts EH.** 1982. The influence of genotype, temperature and moisture on seed longevity in chickpea, cowpea and soybean. Ann. Bot., 50:69-82.
- Ellis RH, Roberts EH.** 1980a. Improved equations for the prediction of seed longevity. Ann. Bot., 45:13-30.
- Ellis RH, Roberts EH.** 1980b. The influence of temperature and moisture on seed viability period in barley (*Hordeum distichum* L.). Ann. Bot., 45:31-37.
- Ellis RH, Roberts EH.** 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Sci. Technol., 9:373-409.
- Fawcett RS, Slife FW.** 1978. Effects of field applications of nitrate on weed seed germination and dormancy. Weed Sci., 26:594-596.
- Fenner M.** 1991. The effects of the parent environment on seed germinability. Seed Sci. Res., 1:75-84.
- Finch-Savage WE, Leubner-Metzger G.** 2006. Seed dormancy and the control of germination. New Phytol., 171:501-523.
- Finkelstein RR, Reeves W, Ariizumi T, Steber C.** 2008. Molecular aspects of seed dormancy. Annu. Rev. Plant Biol., 59:387-415.
- Finney DJ.** 1962. Cap. 3. The Estimation of the Median Effective Dose. Pp. 20-29 en Finney DJ (ed.) Probit Analysis – 2da ed. Cambridge University Press, New York.
- Fischbeck G, Reiner L.** 1967. [Forecasting the dormancy of spring barleys from the 1967 harvest]. Brauwelt, 107(69):1278-1279.
- Flynn S, Turner RM.** 2004. Seed Viability Equation: Viability Utility (release 1.0, September 2004) <http://data.kew.org/sid/viability/index.html>

- Fukazawa J, Sakai T, Ishida S, Yamaguchi I, Kamiya Y, Takahashi Y.** 2000. Repression of shoot growth, a bZIP transcriptional activator, regulates cell elongation by controlling the level of gibberellins. *Plant Cell*, 12:901-915.
- Gate P.** 1995. Ecophysiologie de la germination sur pied. *Perspectives Agricoles*, 204:22-29.
- Giner SA, Lupano CE, Añón MC.** 1991. A Model for Estimating Loss of Wheat Seed Viability During Hot-Air Drying. *Cereal Chem.*, 68(1):77-80.
- Gooding MJ, Davies WP.** 1997. *Wheat Production and Utilization, Systems, Quality and the Environment*. CAB International, UK.
- Goyne PJ, Meinke H, Milroy SP, Hammer GL, Hare JM.** 1996. Development and use of a barley crop simulation model to evaluate production management strategies in north-eastern Australia. *Aust. J. Agric. Res.*, 47:997-1015.
- Gubler F, Millar AA, Jacobsen JV.** 2005. Dormancy release, ABA and pre-harvest sprouting. *Current Opinion in Plant Biology*, 8:183-187.
- Guterman Y.** 1973. Differences in progeny due to day-length and hormone treatment of the mother plant. Pp. 59-80 en Heydecker W (ed.) *Seed ecology*. Butterworth, London.
- Guterman Y.** 1974. The influence of the photoperiodic regime and red-far red light treatments of *Portulaca oleracea* L. plants on the germinability of their seeds. *Oecologia (Berlin)*, 17:27-38.
- Hagberg S.** 1960. A rapid method for determining alpha-amylase activity. *Cereal Chem.*, 37:218-222.
- Han F, Ullrich SE, Clancy JA, Jitkov V, Kilian A, Romagosa I.** 1996. Verification of barley seed dormancy loci via linked molecular markers. *Theor. Appl. Genet.*, 92:87-91.
- Harrington JF.** 1972. Seed storage and longevity. Vol. 3 Pp. 145-245 en Kozlowski TT (ed.) *Seed Biology*. Academic Press, New York.
- Hedden P, Phillips AL.** 2000. Gibberellin metabolism: new insights revealed by the genes. *Trends Plant Sci.*, 5:523-530.
- Heide OM, Junttila O, Samuelsen RT.** 1976. Seed germination and bolting in red beet as affected by parent plant environment. *Physiol. Plant.*, 36:343-349.
- Hilhorst HWM.** 1995. A critical update on seed dormancy: I. Primary dormancy. *Seed Sci. Res.*, 5:61-73.
- Hill HJ, West SH, Hinson K.** 1986. Effect of water stress during seedfill on impermeable seed expression in soybean. *Crop Sci.*, 26:807-812.
- Hook SCW.** 2004. A national grain sampling and analysis system for improved food marketing and safety. HGCA Final Report. London, UK.
- INASE.** 2010. Catálogo Nacional de Cultivares. Buenos Aires, Argentina.
- ISTA.** 1985a. International rules for seed testing. Rules 1985. *Seed Sci. Technol.*, 13:299-355.
- ISTA.** 1985b. International rules for seed testing. Annexes 1985. *Seed Sci. Technol.*, 13:356-513.
- Iuchi S, Kobayashi M, Taji T, Naramoto M, Seki M, Kato T, Tabata S, Kakubari Y, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K.** 2001. Regulation of drought tolerance by gene manipulation of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase: a key enzyme in abscisic acid biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant J.*, 27:325-333.
- Jandell.** 1991. TableCurve v3.0. User's manual version 3.0. AISN Software, Jandell Scientific. Corte Madera, USA.
- Jensen SA, Heltved F.** 1983. An improved method for the determination of pregerminated grains in barley. *Carlsberg Res. Commun.*, 48:1-8.

- Jensen SA, Munck L, Kruger JE.** 1984. A rapid fluorescence method for assessment of pre-harvest sprouting of cereal grains. *Journal of Cereal Science*, 2:187-201.
- Johnson RR, Wagner RL, Verhey SD, Walker-Simmons MK.** 2002. The Absciscic Acid-Responsive Kinase PKABA1 Interacts with a Seed-Specific Absciscic Acid Response Element-Binding Factor, TaABF, and Phosphorylates TaABF Peptide Sequences. *Plant Physiol.*, 130:837-846.
- Justice OL, Bass LN.** 1978. Seed factors that affect storage life. Pp.7-25 en *Principles and practices of seed storage*. U. S. Department of Agriculture.
- Kameswara Rao N, Appa Rao S, Mengesha MH, Ellis RH.** 1991. Longevity of pearl millet (*Pennisetum glaucum* R. Br.) seeds harvested at different stages of maturity. *Ann. Appl. Biol.*, 119:97-103.
- Kameswara Rao N, Jackson MT.** 1996. Seed production environment and storage longevity of japonica rices (*Oryza sativa* L.). *Seed Sci. Res.*, 6:17-21.
- Karssen CM.** 1982. Seasonal patterns of dormancy in weed seeds. Pp. 243-270 en Khan AA (ed.) *The physiology and biochemistry of seed development, dormancy and germination*. Elsevier, Amsterdam.
- Khan RA, Laude HM.** 1969. Influence of heat stress during seed maturation on germinability of barley seed at harvest. *Crop Sci.*, 9:55-58.
- Kigel J, Gibly A, Negbi M.** 1979. Seed germination in *Amaranthus retroflexus* L. as affected by the photoperiod and age during flower induction of the parent plants. *J. Exp. Bot.*, 30:997-1002.
- Kigel J, Ofir M, Koller D.** 1977. Control of the germination responses of *Amaranthus retroflexus* L. seeds by their parental photothermal environment. *J. Exp. Bot.*, 28:1125-1136.
- King RW.** 1989. Physiology of sprouting resistance. Pp. 27-60 en Derera NF (ed.) *Preharvest Field Sprouting in Cereals*. CRC Press, Boca Ratón.
- King RW, Lici I.** 1990. Designing wheat ears to reduce sprouting—the use of umbrellas and raincoats. Pp. 27–33 en Ringlund K, Mosleth E, Mares DJ (eds.) *Fifth International Symposium on Preharvest Sprouting in Cereals*. Westview Press, Boulder.
- King RW, Richards RA.** 1984. Water Uptake in Relation to Pre-harvest Sprouting Damage in Wheat: Ear Characteristics. *Aust. J. Agric. Res.*, 35:327-336.
- King RW, von Wettstein-Knowles P.** 2000. Epicuticular waxes and regulation of ear wetting and pre-harvest sprouting in barley and wheat. *Euphytica*, 112:157-166.
- Kivi E.** 1966. The response of certain pre-harvest climatic factors on sensitivity to sprouting in the ear of two row-barley. *Acta Agric. Fenn.*, 107:228-246.
- Koeltzow DE, Johnson AC.** 1993. Comparison of sprout damage analysis techniques. Pp. 391-399 en Walker-Simmons MK, Reid JL (eds.) *Pre-harvest Sprouting in Cereals 1992*. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN.
- Kraak HL, Weges R.** 1989. Storability of primed lettuce seed. Pp. 43 en *Abstracts, Third Workshop on Seeds*. Williamsburg, Virginia.
- Krochko JE, Abrams GD, Loewen MK, Abrams SR, Cutler AJ.** 1998. (p)-Absciscic acid 80-hydroxylase is a cytochrome P450 monooxygenase. *Plant Physiol.*, 118:849–860.
- Kruger JE, Hatcher DW, Dexter JE.** 1995. Influence of sprout damage on Oriental noodle quality. Pp. 9-18 en Noda K, Mares DJ (eds.) *Seventh International Symposium on Pre-harvest Sprouting in Cereals 1995*. Center for Academic Societies, Osaka, Japan.
- Kuhn JM, Schroeder JI.** 2003. Impacts of altered RNA metabolism on absciscic acid signalling. *Current Opinion in Plant Biology*, 6:463-469.

- Kulp K, Roewe-Smith P, Lorenz K.** 1983. Preharvest sprouting of winter wheat. I. Rheological properties of flours and physicochemical characteristics of starches. *Cereal Chem.*, 60:355-359.
- Lange T.** 1998. Molecular biology of gibberellins synthesis. *Planta*, 204:409-419.
- Lefebvre V, North H, Frey A, Sotta B, Seo M, Okamoto M, Nambara E, Marion-Poll A.** 2006. Functional analysis of Arabidopsis NCED6 and NCED9 genes indicates that ABA synthesised in endosperm is involved in the induction of seed dormancy. *Plant J.*, 45:309-319.
- Lenoir C, Corbineau F, Côme D.** 1986. Barley (*Hordeum vulgare*) seed dormancy as related to glumella characteristics. *Physiol. Plant.*, 68:301-307.
- Li BL, Foley ME.** 1997. Genetic and molecular control of seed dormancy. *Trends in Plant Science*, 2:384-389.
- Lorenz K, Roewe-Smith P, Kulp K, Bates L.** 1983. Preharvest sprouting of winter wheat. II. Amino acid composition and functionality of flour and flour fractions. *Cereal Chem.*, 60:360-366.
- Lorenz K, Valvano R.** 1981. Functional characteristics of sprout-damaged soft white wheat flours. *Journal of Food Science*, 46:1018-1020.
- Lorenz K, Wolt M.** 1981. Effect of altitude on falling number values of flours. *Cereal Chem.*, 58:80-82.
- Mackay DB, Tonkin JHB.** 1967. Investigation in crop seed longevity. I. An analysis of long-term experiments, with special reference to the influence of species, cultivar, provenance and season. *J. Natl. Inst. Agric. Bot.*, 11:209-225.
- Mares DJ.** 1984. Temperature dependence of germinability of wheat (*Triticum aestivum* L.) grain in relation to pre-harvest sprouting. *Aust. J. Agric. Res.*, 35:115-128.
- McCullough JM, Shropshire W.** 1970. Physiological predetermination of responses in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Plant Cell Physiol.*, 11:139-148.
- McDonald MB.** 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Sci. Technol.*, 27:177-237.
- Mendiondo GM, Leymarie J, Farrant JM, Corbineau F, Benceh-Arnold RL.** 2010. Differential expression of abscisic acid metabolism and signalling genes induced by seed-covering structures or hypoxia in barley (*Hordeum vulgare* L.) grains. *Seed Sci. Res.*, 20(2):69-77.
- Millar AA, Jacobsen JV, Ross JJ, Helliwell CA, Poole AT, Scofield G, Reid JB, Gubler F.** 2006. Seed dormancy and ABA metabolism in Arabidopsis and barley: the role of ABA 8'-hydroxylase. *Plant J.*, 45:942-954.
- Miralles DJ.** 2007. Pre-harvest sprouting of wheat and barley in Argentina: Why and where it could be a problem? p. 8. En: *Proceedings of 11th International Symposium on Pre-harvest Sprouting in Cereals*. Mendoza, Argentina.
- Miralles DJ, Domínguez CF, Slafer GA.** 1996. Relationships between grain and post-anthesis leaf area duration in dwarf, semi-dwarf and tall isogenic lines of wheat. *J. Agron. Crop Sci.*, 177:115-122.
- Mohamed HA, Clark JA, Ong CK.** 1985. The influence of temperature during seed development on the germination characteristics of millet seeds. *Plant, Cell and Environment*, 8:361-362.
- Moradi A, Younesi O.** 2009. Effects of Osmo- and Hydro-priming on Seeds Parameters of Grain Sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *Aust. J. Basic Appl. Sci.*, 3(3):1696-1700.

- Nagao S.** 1995. Detrimental effect of sprout damage on wheat flour products. Pp- 3-8 en Noda K, Mares DJ (eds.) Seventh International Symposium on Pre-harvest Sprouting in Cereals. Center for Academic Societies, Osaka, Japan.
- Nath S, Coolbear P, Hampton JG.** 1991. Hydration-dehydration treatments to protect or repair stored 'Karamu' wheat seeds. *Crop Sci.*, 31:822-826.
- Neill SJ, Horgan R.** 1987. Absciscic acid and related compounds. Pp. 111-167 en Rivier L, Croizer A (eds.) *The Principles and Practice of Plant Hormone Analysis*. London Academic Press, UK.
- Nicholls PB.** 1979. Induction of sensitivity to gibberellic acid in developing wheat caryopses: effect of rate of desiccation. *Aust. J. Plant Physiol.*, 6:229-240.
- Nicholls PB.** 1982. Influence of temperature during grain growth and ripening of barley on the subsequent response to exogenous gibberellic acid. *Aust. J. Plant Physiol.*, 9:373-383.
- Ocampo D, Rivas R.** 2010. Comparación de métodos de estimación de la evapotranspiración a escala local en zonas de clima húmedo y árido. I Congreso Internacional de Hidrología de Llanuras. Azul, Argentina.
- Ocampo D, Rivas R, Schirmbeck J.** 2009. Aptitud de diferentes métodos de estimación de la evapotranspiración: aplicación en una zona de clima templado. Aportes de la Hidrología al conocimiento de los recursos hídricos. Pp. 437-446 en Mariño, Schulz (eds.) *Actas del VI Congreso Argentino de Hidrogeología*. Santa Rosa, Argentina.
- Oishi MY, Bewley JD.** 1992. Premature drying, fluridone-treatment, and embryo isolation during development of maize kernels (*Zea mays* L.) induce germination, but the protein synthetic responses are different. Potential regulation of germination and protein synthesis by abscisic acid. *J. Exp. Bot.*, 43:759-767.
- Pararajasingham S, Hunt LA.** 1991. Wheat spike temperature in relation to base temperature for grain filling duration. *Can. J. Plant Sci.*, 71:63-69.
- Paulsen GM, Auld AS.** 2004. Preharvest Sprouting of Cereals. Pp. 199-219 en Benech-Arnold RL, Sánchez RA (eds.) *Handbook of Seed Physiology: applications to agriculture*. Food Product Press, New York.
- Perten H.** 1964. Application of the falling number method for evaluating alpha-amylase activity. *Cereal Chem.*, 41:127-140.
- Peters NCB.** 1982. Production and dormancy of wild oat (*Avena fatua*) seed from plants grown under soil water stress. *Ann. Appl. Biol.*, 100:189-196.
- Phillips A, Ward D, Uknes S, Appleford N, Lange T, Huttly A, Gaskin P, Graebe J, Hedden P.** 1995. Isolation and expression of three gibberellin 20-oxidase cDNA clones from *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 108:1049-1057.
- Pieta Filho C, Ellis RH.** 1991. The development of seed quality in spring barley in four environments. I. Germination and Longevity. *Seed Sci. Res.*, 1:163-177.
- Pitz WJ.** 1990. Rapid and Objective Methods for the Estimation of Pregermination and Viability in Barley. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 49:119-127.
- Pourkheirandish M, Komatsuda T.** 2007. The importance of barley genetics and domestication in a global perspective. *Ann. Bot.*, 100:999-1008.
- Prada D, Ullrich SE, Molina-Cano JL, Cistué L, Clancy JA, Romagosa I.** 2004. Genetic control of dormancy in a Triumph/Morex cross in barley. *Theor. Appl. Genet.*, 109:62-70.
- Priestley DA.** 1986. Seed Aging: Implications for Seed Storage and Persistence in the soil. Cornell University Press, Ithaca.

- Pritchard HW, Dickie JB.** 2004. Predicting seed longevity. Pp. 654-721 en: Smith RD, Dickie JB, Pritchard HW, Probert RJ (eds.) Seed Conservation, turning science into practice. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
- Reiner L.** 1966. [Forecasting the dormancy of spring barleys of the 1966 harvest]. Brauwelt, 106(66-67):1197-1198.
- Reiner L, Fischbeck G.** 1965. [The dormancy of spring barleys of the 1965 harvest]. Brauwelt, 105(72):1324-1325.
- Reiner L, Loch V.** 1976. Forecasting dormancy in barley: ten years experience. Cereal Res. Commun., 4:107-110.
- Richardson SS.** 1979. Factors influencing the development of primary dormancy in wild oat seeds. Can. J. Plant Sci., 59:777-784.
- Roberts EH.** 1961. Viability of cereal seed for brief and extended periods. Ann. Bot., 25:373-380.
- Roberts EH.** 1972. Storage environment and the control of viability. Pp.14-58 en: Roberts EH (ed.) Viability of seeds. Chapman and Hall, London.
- Robichaud CS, Wong J, Sussex IM.** 1980. Control of in vitro growth of viviparous embryo mutants of maize by abscisic acid. Dev. Genet., 1:325-330.
- Rodríguez V, González Martín J, Insausti P, Margineda JM, Benech-Arnold RL.** 2001. Predicting pre-harvest sprouting susceptibility in barley: a model based on temperature during grain filling. Agron. J., 93:1071-1079.
- Rodríguez MV, Mendiondo GM, Maskin L, Gudesblat GE, Iusem ND, Benech-Arnold RL.** 2009. Expression of ABA signalling genes and ABI5 protein levels in imbibed *Sorghum bicolor* caryopses with contrasting dormancy and at different developmental stages. Ann. Bot., 104:975-985.
- Romagosa I, Han F, Clancy JA, Ullrich SE.** 1999. Individual locus effects on dormancy during seed development and after ripening in barley. Crop Sci., 39: 74-79.
- Ross AS, Walker CE, Booth RI, Orth RA, Wrigley CW.** 1987. The rapid visco-analyzer: A new technique for the estimation of sprout damage. Cereal Foods World, 32:827-829.
- SAGPyA.** 2000. Norma V. Anexo C. Cebada cervecera seleccionada para maltería. Resolución SAGPyA N° 813/00.
- SAGPyA.** 2007. Estimaciones Agrícolas. Cebada cervecera. Informe de cierre de campaña 2006/07.
- SAGyP.** 1994. Normas de Comercialización de Granos. Resolución SAGyP N° 1075/94.
- Saini HS, Westgate ME.** 2000. Reproductive development in grain crops during drought. Adv. Agron., 68:59-96.
- Sánchez J, Gualano NA, Benech-Arnold RL.** 2008. Efecto de la temperatura de secado sobre la longevidad potencial de lotes de cebada cervecera (*Hordeum vulgare* L.). XIII Reunión Latinoamericana y XXVII Reunión Argentina de Fisiología Vegetal. Rosario, Argentina.
- Sasaki A, Itoh H, Gomi K, Ueguchi-Tanaka M, Ishiyama K, Kobayashi M, Jeong DH, An G, Kitano H, Ashikari M, Matsuoka M.** 2003. Accumulation of phosphorylated repressor for gibberellin signaling in an F-box mutant. Science, 5614:1853-4.
- Sawhney R, Naylor JM.** 1980. Dormancy studies in seed of *Avena fatua*. 12. Influence of temperature on germination behaviour of nondormant families. Can. J. Bot., 58:578-581.

- Sawhney R, Naylor JM.** 1982. Dormancy studies in seed of *Avena fatua*: 13. Influence of drought stress during seed development on duration of seed dormancy. *Can. J. Bot.*, 60:1016-1020.
- Schildbach R.** 1987. Pregermination of barley and the gushing of beers. *Brauwelt*, 127:1559-1567.
- Schopfer P, Bajracharya D, Plachy C.** 1979. Control of seed germination by abscisic acid: I. Time course of action in *Sinapis alba* L. *Plant Physiol.*, 64:822-827.
- Schuurink RC, Van Beckum JMM, Heidekamp F.** 1992. Modulation of grain dormancy in barley by variation of plant growth conditions. *Hereditas*, 117:137-143.
- Schwartz SH, Tan BC, Gage DA, Zeevaart JAD, McCarty DR.** 1997. Specific oxidative cleavage of carotenoids by VP14 of maize. *Science*, 276:1872-1874.
- Sexsmith JJ.** 1969. Dormancy of wild oat seeds produced under various temperature and moisture conditions. *Weed Sci.*, 17:405-407.
- Sharif-Zadeh F, Murdoch AJ.** 2000. The effects of different maturation conditions on seed dormancy and germination of *Cenchrus ciliaris*. *Seed Sci. Res.*, 10:447-457.
- Shimada A, Ueguchi-Tanaka M, Sakamoto T, Fujioka S, Takatsuto S, Yoshida S, Sazuka T, Ashikari M, Matsuoka M.** 2006. The rice SPINDLY gene functions as a negative regulator of gibberellin signaling by controlling the suppressive function of the DELLA protein, SLR1, and modulating brassinosteroid synthesis. *The Plant Journal*, 48:390-402.
- Skerritt JH, Heywood RH.** 2000. A Five-Minute Field Test for On-Farm Detection of Pre-Harvest Sprouting in Wheat. *Crop Sci.*, 40:742-756.
- SMN (Servicio Meteorológico Nacional).** 2009. Informe sobre precipitaciones deficitarias en zona húmeda y semi húmeda durante el 2008.
- Sole SM.** 1994. Effects of pregermination on germination properties of barley and resultant malt quality. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 52:76-83.
- Somody CN, Nalewaja JD, Miller SD.** 1984. The response of wild oat (*Avena fatua*) and *Avena sterilis* accessions to photoperiod and temperature. *Weed Sci.*, 32:206-213.
- Sorlino DM, Benech-Arnold RL.** 2003. Manejo postcosecha y almacenamiento. Pp. 741-756 en: Satorre EH, Benech-Arnold RL, Slafer GA, Otegui ME, de la Fuente EB, Miralles DJ, Savin R (eds.) *Producción de Granos. Bases Funcionales para su manejo*. Editorial Facultad de Agronomía, Buenos Aires.
- Stahl M, Steiner AM.** 1998. Germination and vigour loss of non-sprouted and sprouted wheat seeds during storage-testing the viability constants. *Seed Sci. Res.*, 8:123-128.
- Statistix v7.0.** 2000. Analytical Software. Florida, USA.
- Steinbach HS, Benech-Arnold RL, Kristof G, Sánchez RA, Marcucci Poltri S.** 1995. Physiological basis of pre-harvest sprouting resistance in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. ABA levels and sensitivity in developing embryos of sprouting resistant and susceptible varieties. *J. Exp. Bot.*, 45:701-709.
- Steinbach HS, Benech-Arnold RL, Sánchez RA.** 1997. Hormonal regulation of dormancy in developing *Sorghum* seeds. *Plant Physiol.*, 113:149-154.
- Strand E.** 1964. Studies on seed dormancy in barley. *Meldinger fra Norges Landbrukshogskole*, 44:1-23.
- Tamaguchi J, Toyofuku K, Morita A, Ikeda A, Matsukura C, Peralta P.** 1998. Sugar repression of alpha-amylase genes in rice embryos. Pp. 136-145 en Weipert D (ed.) *Eight International Symposium on Pre-harvest Sprouting in Cereals 1998*. Association of Cereal Research, Deltmond, Germany.

- Tarquis AM, Bradford KJ.** 1992. Prehydration and Priming Treatments that Advance Germination also Increase the Rate of Deterioration of Lettuce Seeds. *J. Exp. Bot.*, 43:307-317.
- Thomas JF, Raper CD.** 1979. Germinability of tobacco seed as affected by culture of the mother plant. *Agron. J.*, 71:694-695.
- Tipples KH.** 1971. A note on sample size error in the falling number test. *Cereal Chem.*, 48:85.
- Toh S, Imamura A, Watanabe A, Nakabayashi K, Okamoto M, Jikumaru Y, Hanada A, Aso Y, Ishiyama K, Noriko Tamura, Iuchi S, Kobayashi M, Yamaguchi S, Kamiya Y, Nambara E, Kawakami N.** 2008. High Temperature-Induced Absciscic Acid Biosynthesis and Its Role in the Inhibition of Gibberellin Action in *Arabidopsis* Seeds. *Plant Physiol.*, 146:1368-1385.
- Trajkovic S, Kolakovic S.** 2009. Evaluation of Reference Evapotranspiration Equations Under Humid Conditions. *Water Resour. Manage.*, 23:3057–3067.
- Turc L.** 1961. Evaluation des besoins en eau d'irrigation, evapotranspiration potentielle, formule climatique simplifiée et mise a jour. *Ann. Agron.*, 12:13-49.
- Ullrich SE, Lee H, Clancy JA, del Blanco IA, Jitkov VA, Kleinhofs A, Han F, Prada D, Romagosa I, Molina-Cano JL.** 2009. Genetic relationships between preharvest sprouting and dormancy in barley. *Euphytica*, 168:331-345.
- Vallati AR.** 1997. Evaluación de un ensayo de épocas y cultivares de cebada cervecera, con y sin daño de brotado. Informe técnico INTA.
- Van Pijlen JG, Groot SPC, Kraak HL, Bino RJ.** 1996. Effect of pre – storage hydration treatments on germination performance, moisture content, DNA synthesis and controlled deterioration tolerance of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) seeds. *Seed Sci. Res.*, 6:57-63.
- Varis S, George RAT.** 1985. The influence of mineral nutrition on fruit yield, seed yield and quality in tomato. *J. Hortic. Sci.*, 60:373-376.
- Vertucci CW, Leopold AC.** 1986. Physiological activities associated with hydration levels in seeds. Pp. 35-49 en Leopold AC (ed.) *Membranes, Metabolism and Dry Organisms*. Comstock Publishing Association, Ithaca.
- Wade L, Norris C, Walsh P.** 1988. Effects of suboptimal plant density and non-uniformity in plant spacing on grain yield of rain grown sunflower. *Aust. J. Exp. Agric.*, 28:617-622.
- Walker-Simmons MK.** 1987. ABA levels and sensitivity in developing wheat embryos of sprouting resistant and susceptible cultivars. *Plant Physiol.*, 84:61-66.
- Walker-Simmons MK, Sesing J.** 1990. Temperature effects on embryonic abscisic acid levels during development of wheat grain dormancy. *Journal of Plant Growth Regulation*, 9:51-56.
- Watson CE, Watson VH.** 1982. Nitrogen and date of defoliation effects on seed yield and seed quality of tall fescue. *Agron. J.*, 74:891-893.
- Wiegand CL, Cuellar JA.** 1981. Duration of grain filling and kernel weight of wheat as affected by temperature. *Crop Sci.*, 21:95-101.
- Wiesner LE, Grabe DF.** 1972. Effect of temperature preconditioning and cultivar on ryegrass (*Lolium sp.*) seed dormancy. *Crop Sci.*, 12:760–764.
- Wurzburger J, Koller D.** 1976. Differential effects of the parental photothermal environment on development of dormancy in caryopses of *Aegilops kotschyi*. *J. Exp. Bot.*, 27:821–826.
- Xiao SH, Zhang XY, Yan CS, Lin H.** 2002. Germplasm improvement for preharvest sprouting resistance in Chinese white-grained wheat: An overview of the current strategy. *Euphytica*, 126:35-38.